Untersuchungen über die cytologische Wirkung einiger Bestandteile pflanzlicher Abortiva der Volksmedizin

Ernst Schmid

1967

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546019_0064

Aus dem Botanischen Institut der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Leo Brauner

Untersuchungen über die cytologische Wirkung einiger Bestandteile pflanzlicher Abortiva der Volksmedizin

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians- Universität
München

vorgelegt
von
Ernst Schmid
aus
München

1966

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

1. Berichterstatter: Prof. Dr. A. Barthelmeß
2. Berichterstatter: Prof. Dr. L. Brauner

Tag der mündlichen Prüfung: 22. 2. 1967

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von November 1964 bis Dezember 1966 unter Leitung von Herrn Professor Dr. Alfred BARTHELMESS am Botanischen Institut der Universität München durchgeführt.

Herrn Professor Dr. Leo BRAUNER, Direktor des Botanischen Institutes der Universität München, bin ich für seine freundliche Erlaubnis, diese Arbeit in seinem Institut durchführen zu können, zu besonderem Dank verpflichtet.

Herrn Professor Dr. Alfred BARTHELMESS danke ich herzlich für Themastellung und stete Betreuung.

Herrn Professor Dr. Hildebert WAGNER vom Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München danke ich herzlich für die kostenlose Überlassung von Anthrachinondrogen.

Inhaltsverzeichnis

A. Einleitung 1

Teststoffe 3

B. Matherial und Methode 4

C. Versuchsergebnisse

1. Thujaplicin 5

Behandlungs- und Erholungszeiten 6
Klärung der sensiblen Phase 1o
Analyse mit Colchicin 11
Tabellen, Photos 12

2. Thujon 18

Behandlungs- und Erholungszeiten 18
Klärung der sensiblen Phase 21
Analyse mit Colchicin 22
Tabellen, Photos 23

3. Thujylalkohol 27

Behandlungs- und Erholungszeiten 27
Tabellen, Photos 28

4. Sabinen 32

Behandlungs- und Erholungszeiten 32
Tabellen, Photos 33

5. Aloe-Emodin-glucosid 37

Behandlungs- und Erholungszeiten 37
Klärung der sensiblen Phase
a) mittels Kurzzeitbehandlung 38
b) mittels Colchicinvorbehandlung 39
Analyse mit Colchicinnachbehandlung 4o
Versuche zur Konstitutionsspezifität 41
Tabellen, Photos 42

D. Diskussion

1. Cytologische Effekte und deren genetische Folgen 47

a) Spindelstörungen 47
b) Strukturaberrationen 5o
c) Stickiness und Pyknose 52
d) Prophasevergiftung 54
e) Dysgenische Folgen der cytologischen Effekte 55

2. Konstitutionsspezifität

a) Thujaplicin 56
b) Thujon, Thujylalkohol, Sabinen 57
c) Aloe-Emodin-glucosid 57

3. Möglichkeit von Rückschlüssen auf den Menschen 58

E. Zusammenfassung 6o

F. Literatur 61

A. Einleitung

Unter den zahlreichen Erklärungsversuchen im Fall von Mißbildungen darf man nach GREBE (1952) an den so häufig unternommenen, aber so wenig exakt erfaßbaren Abtreibungsversuchen nicht vorübergehen, da die Gefahren für die wachsende Frucht nicht unterschätzt werden dürfen.

BOCK (1952) schildert einen gewaltigen klinischen Anstieg der größtenteils kriminellen Fehlgeburtenziffer seit dem Herbst 1945, während WORMS (1952) für den gleichen Zeitraum die prozentual höchsten Ziffern an Mißbildungen erwähnt.

WINDORFER (1953) weist in diesem Zusammenhang darauf hin, daß die Zunahme der Mißbildungen in Zeiten schwerster materieller und psychischer Not, wie sie Krieg und Nachkriegszeit darstellen, nicht ausschließlich auf Mangelernährung und seelische Not rückführbar ist, sondern daß dabei die Keim- und Fruchtschädigung durch mißglückte Abtreibungsversuche mitspielen dürfte. WINDORFER wirft die Frage auf, ob eine derartige Schädigung der Frucht durch Abortiva überhaupt möglich ist, welche Einwirkungen in Betracht kommen und auf welche Weise diese schädigend sein können.

Solche Einwirkungen können bestehen
a) in teratogenen Störungen ohne Mitoseanomalien und ohne Strukturdefekten am genetischen Material durch Nachhinken eines Zellbezirkes in der Mitoserate. Solche Mißbildungen sind nicht vererbbar, auch wenn davon Zellbezirke der Keimbahn betroffen sind.
b) in teratogenen Störungen auf Grund von Anomalien der Spindelfunktion. Da diese meist von erheblichen Änderungen der Mitoserate begleitet sind, führen sie zu ähnlichen Mißbildungen wie Gruppe a, doch sind hier die Deszendenten der Teilungsstörung (Einzelzellen oder Gewebe) heteroploid. Falls davon Zellbezirke der Keimbahn betroffen sind, kann der abnorme Genotyp unter Umständen an Nachkommen vererbt werden.
c) in teratogenen Folgen von Strukturmutationen (d.h. Genmutationen, Deletionen, Duplikationen und bestimmten Typen von Translokationen) in Zellen von Keimbahn oder Soma. Im ersteren Fall ist wiederum unter Umständen die Möglichkeit der Vererbung

des abnormen Genotyps an Nachkommen gegeben.

Erstmals setzt sich BARTHELMESS (1961/1963) für die Erforschung eventueller Mutagenität von Abortiva der Volksmedizin ein, da gerade hier wegen der meist hohen Dosen der Abtreibungsmittel und wegen der Möglichkeit des Übertrittes solcher Stoffe vom mütterlichen in den embryonalen Blutkreislauf wichtige Voraussetzungen zur "potentiell erbgesundheitsschädlichen" (BARTHELMESS 1956) bzw. "potentiell dysgenischen" (BARTHELMESS 1961/1963) Wirkung gegeben sind. Der Gedanke an die Möglichkeit dysgenischer Wirkung von Abortiva war in der bisherigen medizinischen Literatur über die Gefahren chemischer Abtreibungsversuche nirgends auch nur andeutungsweise erwähnt worden.

Derartige Untersuchungen über die Möglichkeit einer solchen Wirkung der Abortiva können nur an Testorganismen ausgeführt werden. Sie setzen aber die Zulässigkeit eines Rückschlusses auf den Menschen voraus. Solch ein Analogieschluß ist insofern berechtigt, als der Mensch mit allen in Frage kommenden Versuchsorganismen sowohl hinsichtlich der chemischen Zusammensetzung der genetisch aktiven Substanz, wie der Struktur ihrer Trägerorganelle, ihrer Reproduktion, Funktionsweise und der Verteilungsvorgänge in Mitose und Meiose in allem Wesentlichen übereinstimmt. BARTHELMESS (1956, 1961/1963) schlug daher vor, Substanzen, die in den menschlichen Körper aufgenommen werden und sich bei mehreren verschiedenen Testorganismen als mutagen erweisen, als "potentiell dysgenisch" zu bezeichnen. Das bedeutet, daß wegen der erwähnten Universalität mit Mutagenität auch beim Menschen gerechnet werden muß, jedoch nur, wenn die Substanzen (oder im menschlichen Körper aus ihnen gebildete aktive Umwandlungsprodukte) bei der üblichen Inkorporation das genetische Material (vor allem das der Keimbahn) in genügender Konzentration erreichen können.

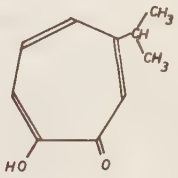
In der vorliegenden Arbeit wurden als Testobjekte Wurzelspitzen von Vicia faba L. verwendet, weil deren Spitzenmeristeme für die Beobachtung sichtbarer Veränderungen an den Chromosomen und Abweichungen vom normalen Mitoseverlauf vorzüglich geeignet sind. Das Objekt ist seit langem in zahlreichen Laboratorien für solche Zwecke eingeführt und hat sich bestens bewährt.

Zur Untersuchung gelangten aus den zahlreichen Abortiva der Volksmedizin Bestandteile der am meisten benützten Pflanzen, nämlich von Thuja occidentalis L. (LEWIN 1925, 1962), Chrysanthemum vulgare L. (LEWIN 1925), Juniperus sabina L. (LEWIN 1925), Aloe spec. (LEWIN 1925, 1962) und Rheum spec. (LEWIN 1925).

Teststoffe:

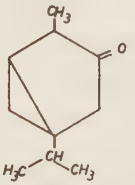
1) β-Thujaplicin

β-Thujaplicin ist chemisch das 4-Isopropyltropolon. Es kommt u.a. im ätherischen Öl des Holzes bzw. der Wurzeln von Thuja- und Juniperusarten vor.



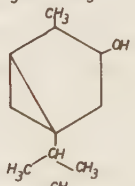
2) Thujon (α+β)

α-Thujon kommt hauptsächlich im Thujaöl, β-Thujon in Chrysanthemum vulgare vor.



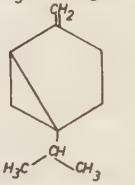
3) Thujylalkohol

Das Terpen kommt in den Blattölen von Thujaarten vor.



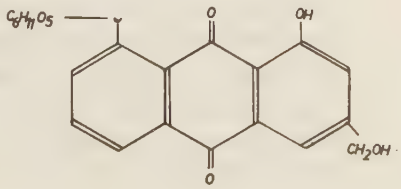
4) Sabinen

Das Terpen kommt im Sadebaumöl von Juniperus sabina vor.



5) Aloe-Emodin-glucosid

Es ist chemisch das 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthrachinon-8-mono-β-D-glucosid (HÖRHAMMER, FARKAS, WAGNER, MÜLLER 1964). Es kommt in Aloe- und Rheumarten vor.



B. Material und Methode

Als Versuchsmaterial diente Vicia faba L. (Sorte "Herz Freya"). LEVAN und LOTFY stellten bereits 1950 fest, daß nach 24-stündigem Quellen der Samen von Vicia faba die spontane Aberrationsrate merklich erhöht ist. Die gleiche Beobachtung am selben Objekt machten auch RIEGER und MICHAELIS (1958a). Letztere führen diesen Effekt auf eine Produktion von "automutagenen" Substanzen zurück, die wegen der partiell anaeroben Bedingungen beim Quellen im stehenden Wasser entstehen. 1959 konnten MICHAELIS, RAMSHORN und RIEGER den Äthylalkohol als hauptverantwortliches Agens identifizieren. Zur weitgehenden Ausschaltung der Entstehung von Äthylalkohol, sowie dessen radiomimetischer Wirkung, wurden in der vorliegenden Arbeit nur einjährige Samen verwendet, die in gut von Luft durchperltem Leitungswasser gequollen und nach Entfernung der Samenschalen auf nassem Filterpapier in Petri-Schalen bei 24° Celsius ausgekeimt waren.

Nach dem Austreiben der ersten Seitenwurzeln wurden die Keimlinge auf Gläser mit Leitungswasser gesetzt. Waren die Seitenwurzeln ca. 2 cm lang, erfolgte die Behandlung mit den einzelnen Teststoffen. Es kamen dabei keine Primärwurzeln der Bohnen zum Einsatz, wie sie ausschließlich von allen oben erwähnten Autoren benutzt wurden, denn nach NATRAJAN und UPADHYA (1964) und RIEGER und MICHAELIS (1961) zeigen die Seitenwurzeln von Vicia faba keine so hohen Spontanmutationsraten wie Hauptwurzeln. Ferner werden wegen der gleichmäßigeren Dicke der Seitenwurzeln große Unterschiede in der Diffusion der einzelnen Agentien vermieden.

Die normale Behandlungszeit betrug vier Stunden, danach wurden die Wurzeln sorgfältig gewaschen und wieder in Leitungswasser zur Erholung rückversetzt. Weitere - meist kürzere - Behandlungszeiten sind bei der Besprechung der Teststoffe angeführt. Die Konzentration der Agenslösungen wurde unter der nach 24-stündiger Behandlung letalen Dosis gehalten und durch geometrische Verdünnung mit dem Faktor 0,5 abgestuft. Um die interindividuelle Variabilität zu erfassen, wurden je drei Bohnen in diesen Konzentrationsstufen getestet.

Unmittelbar vor und nach der Behandlung, sowie nach 6,24 und 48 Stunden Erholung wurden von jeder Bohne vier Wurzelspitzen in Alkohol - Eisessig 3:1 fixiert, in toto nach Feulgen gefärbt, zu Quetschpräparaten verarbeitet und in Caedax eingeschlossen. Von den besten Präparaten mit der höchsten Teilungsfrequenz gelangte in Kontrollen und Versuchsreihen mindestens je eine ganze Wurzelspitze jeder Bohne zur Auswertung. Ergaben diese drei Werte zusammen nicht eine Mitosezahl von 1000, wurden entsprechend mehr Wurzelspitzen berücksichtigt. Meist wurde noch eine zweite Wurzel jeder Bohne übersichtsmäßig kontrolliert, um auch die intra-individuelle Variabilität zu erfassen.

Die Einzelwerte der drei Bohnen pro Versuch sind in der vorliegenden Arbeit nur in den Tabellen der Kurzzeitbehandlung angeführt. Bei den übrigen Versuchen wurde zur Straffung und besseren Übersichtlichkeit der Tabellen darauf verzichtet, da ohnehin die inter-individuelle Variabilität aus den Ergebnissen der Kurzzeitbehandlung ersichtlich ist.
Die Auswertung der Präparate erfolgte immer mit Ölimmersion bei ca. 1250-facher Vergrößerung.

C. Versuchsergebnisse

1. Thujaplicin

Eine 0,001 molare wässrige Thujaplicinlösung wirkte nach 24 Stunden Behandlung letal auf die Wurzelspitzen. Daher wurden für die folgenden Versuche 0,0005, 0,00025 und 0,00012 molare Lösungen angesetzt.
Während der Behandlungs- und Erholungszeiten können keine äußeren Schäden der Wurzelspitzen beobachtet werden, nur das Längenwachstum der Seitenwurzeln weist bei der stärksten Konzentration eine deutliche Abnahme gegenüber den Kontrollen auf. Diese Erscheinung beruht auf einer Hemmung der Mitosetätigkeit bei zunehmender Behandlungszeit und erreicht ihren Höhepunkt

nach sechs Stunden Erholung (Tabelle II) mit völligem Mitosestop. Erst nach längerer Erholungszeit erlangen auch diese Wurzeln wieder die Mitosezahl der Kontrollen.

Cytologische Effekte:

a) während der Einwirkung:

Der cytologische Effekt vollzieht sich in mehreren Teilschritten, wobei sich das Gesamtbild der Wirkung im Laufe von vier Stunden zu einem Höhepunkt entwickelt.
Schon nach einer Stunde Behandlung mit o,ooo5 molarer Lösung sinkt die Gesamtmitoseanzahl auf ein Drittel der entsprechenden Wasserkontrollen, während sich bereits alle Störungsarten erkennen lassen (Tabelle I). Die Spindelanomalien verteilen sich etwa gleichmäßig auf Meta- und Anaphasen, beeinflussen aber die einzelnen Zellen unterschiedlich stark. Strukturschäden, Sticky-Effekte und pyknotische Kerne treten dagegen noch in geringerem Maße, aber dafür gleichmäßiger in den einzelnen Bohnen auf.
Nach zwei Stunden verstärken sich außer der Verklebung alle diese Schäden, vor allem aber die Spindelstörungen der Metaphase, die rein stathmokinetisch wirken. Unter den Strukturdefekten erscheinen erstmals viele Telophasebrücken.
Nach drei Stunden häufen sich die Prophasestadien. Dies beruht wahrscheinlich auf einer Hemmung des Überganges von Pro- zu Metaphase, da viele Chromosomen solcher Prophasen, nach ihrer Lage und Größe zu schließen, bereits prometaphasisch sein müßten. Auch zu diesem Zeitpunkt auftretende Fragmente deuten darauf hin, daß der Übergang zur Prometaphase gestört ist. In dieser letzten Stunde haben sich die Verteilungsschäden verdreifacht und zeigen jetzt neben dem bisherigen teilweisen nun auch totalen Spindelausfall. Bei den Chromosomenstörungen nehmen die Telophasebrücken immer mehr zu. Die Zahl der Klein- und Kleinstkerne ist in diesen drei Stunden etwa gleichmäßig angewachsen.
Nach vier Stunden ist der Störungshöhepunkt erreicht. Daher soll jetzt näher auf die einzelnen Anomalien eingegangen werden.

aa) Verteilungsstörungen:

Auffallenderweise nimmt nach dieser weiteren Stunde der prozen-

tuale Anteil der Spindeldefekte stark ab, obwohl der Grad der Gesamtstörung noch weiter ansteigt. Die Störungsart ist rein stathmokinetisch, wenn auch im Wirkungsausmaß verschieden. Bei völlig apolarer Anordnung liegen die Chromosomen unregelmäßig im Kernraum verstreut und trennen sich wahrscheinlich nur passiv (Abb. 1a,1b). Vereinzelt spreizen die Chromatiden, wenn sich die Centromere verzögert teilen (Abb. 1b). Daneben zeigt sich eine schwächere Form von Spindelstörung. Hier liegen die Chromosomen mehr oder weniger geordnet in der Äquatorebene, wirken aber stark überaltert und verkürzt (Abb. 1c).

ab) Chromosomenstörungen:

Diese Schäden haben sich noch weiter erhöht und machen sogar in einer Bohne 4o% der Gesamtstörung aus. Sie können leicht in vier Gruppen eingeteilt werden (Tabelle III):

Fragmente, die keinem bestimmten Chromosom zugeordnet werden können (Abb. 1d). Insbesondere kann keine höhere Bruchanfälligkeit des SAT-Chromosoms gegenüber den anderen fünf Chromosomen festgestellt werden.

Brücken als Folge von Chromosomenumbauten sind zu diesem Zeitpunkt sehr selten.

Anders ist es dagegen mit den Strukturschäden, die auf einer mehr oder weniger starken Verklebungstendenz beruhen, denn sie machen den größten Teil aller Chromosomendefekte aus. Der Mitoseablauf scheint dabei bis zur Metaphase normal zu erfolgen, jedenfalls tritt die Verklebung erst in diesem Stadium auf. Einzelne Chromatiden können sich an den Enden nicht voneinander lösen, obwohl man aus deren Lage schließen kann, daß sie bereits von den Spindelfasern erfaßt sind. Diese Verklebung bleibt auch dann noch erhalten, wenn die ungestörten Chromosomen schon die Anaphasepole erreicht haben (Abb. 2a). Meistens verkleben mehrere Chromosomen gleichzeitig, sodaß in der Anaphase drei oder mehr solcher "Sticky-Brücken" entstehen können (Abb. 2c). Falls die Anaphasebewegung doch noch diese Verklebung lösen kann, reißen diese "Fäden" einfach ab (Abb. 2b). Gelingt dies nicht, bleiben die "Brücken" auch noch in der späten Telophase erhalten (Abb. 2d). Als letzte Äußerung dieser Verklebungstendenz können vielleicht Interphasekerne angesprochen werden, bei denen Ausbuchtungen, Spitzen oder kleinere

Anhängsel zu sehen sind.
In Tabelle III sind noch die Telophasebrücken als besondere Spalte aufgeführt. Dies geschieht, da dieser Störungstyp ziemlich häufig vorkommt, andererseits es aber nicht immer möglich ist zu entscheiden, ob sie auf Chromosomenumbauten oder Verklebung beruhen (Abb. 2e).

ac) Pyknotische Kerne:

Hierher werden die Verklumpungen gerechnet, die aus einer Verklebung aller Chromosomen resultieren. Bei diesem bis zur "Pyknose" gesteigerten Effekt scheint der Mitoseablauf ab der Metaphase gehemmt (Abb. 2f) oder überhaupt nicht durchgeführt zu werden. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die meisten dieser pyknotischen Kerne irreversibel geschädigt sind. Besonders auffallend ist das schnelle Wachsen des prozentualen Anteils dieser Pyknosen zwischen drei und vier Stunden Behandlung, womit auch eine starke Zurückdrängung der Verteilungsstörungen verbunden ist.

ad) Kleinkerne:

Als Folge der Stathmokinesen treten heteroploide Kerne mit Kleinkernen auf, deren gegenseitige Anordnung von der vorhergehenden Chromosomenstreuung bestimmt wird (Abb. 2i). Auch finden sich viele Kleinkerne, bei denen es sich, ihrer Größe und Lage nach zu schließen, um einzelne Chromosomen oder Fragmente handeln muß.

Eine längere Einwirkung der Thujaplicinlösung wurde nicht ausgewertet, da die Teileffekte zu stark verwischt erscheinen. Außerdem verstärken sich nur alle angeführten Anomalien, während keine neuen dazukommen. Es folgen daher sofort die Ergebnisse der Erholungsversuche.

b) Cytologische Effekte während der Erholung:

Nach sechs Stunden wird die noch nicht letale Einwirkung der o,ooo5 molaren Thujaplicinlösung noch einmal verstärkt, denn der Schädigungsgrad hat bis zur gänzlichen Einstellung der Mitosetätigkeit zugenommen. Dabei finden sich in einzelnen Zellen der Wurzelspitzen unregelmäßige eckige Interphasekerne, die wahrscheinlich auf einer Weiterentwicklung der pyknotischen Mitosekerne beruhen, denn nach RIEGER und MICHAELIS (1958 b) sind solche Kerne durch Zusammenballung des Chromatins und

einer Verdichtung der Kernkolloide unter Wasserverlust entstanden.

Nach 24 Stunden ist die Mitosehemmung weitgehend überwunden. Falls die pyknotischen Kerne nur die Folge starker Stickiness darstellen und nicht etwa auch auf einer toxischen Chromatinschädigung beruhen, kann man ihre Abnahme als Indiz einer nur mehr schwachen Verklebungstendenz deuten. Folglich dürfte der hohe Anteil an Chromosomendefekten und Kleinkernen (Tabelle II) hier aus Strukturbrüchen und -umbauten stammen. Bezüglich der Kleinkerne läßt sich dies wohl auch daraus schließen, daß diese meist neben winzigen DNS-Tropfen zwischen zwei leicht deformierten Kernen liegen. Die wenigen Verteilungsstörungen resultieren aus unsauberer Einordnung der prometaphasischen Chromosomen in die Äquatorebene oder teilweisem Spindelausfall. Daneben finden sich als Folge apolarer Stathmokinesen polyploide Kerne (Abb. 2g).

Nach 48 Stunden gibt es außer einigen pyknotischen Kernen nur noch Störungen an den Chromosomen und zwar häufen sich jetzt mehr freie Fragmente (Abb. 1e,1f,1g) und Strukturbrücken (Abb. 1h,1i). Die zahlreichen Kleinkerne sind nun immer kleine, stark feulgenpositive Tropfen. Diese Kleinstkerne, die immer noch strukturiert erscheinen, stammen sicherlich von Fragmenten. Daneben treten jetzt auch homogene Tröpfchen auf, die DNS sein könnten und auch von KATO (1955) und KECK und HOFFMANN-OSTENHOF (1954) dafür gehalten werden.

Nach 72 Stunden finden sich keine Anzeichen mehr für eine noch bestehende Nachwirkung der Thujaplicinlösung.

In o,ooo25 und o,ooo12 molaren Thujaplicinlösungen (TabelleII) kommen die Strukturschäden besser zur Geltung, da sich in diesen niederen Konzentrationsstufen die Verklumpung und Überalterung nicht mehr so störend bemerkbar machen. Deshalb ist deutlicher zu erkennen, daß in den Erholungszeiten vor allem Strukturbrücken und freie Fragmente vorherrschen (Tabelle III). Die Verteilungsdefekte erreichen hier nur sehr geringe Prozentsätze, außerdem ist auch der Grad der Schädigung nicht so stark, reicht doch der Zug der Spindelfasern bei solchen gestörten Mitosephasen aus, um den normalen Ablauf der Anaphasebewegung, wenn auch nur teilweise, zu ermöglichen. Auffallenderweise finden sich Starmeta- und Staranaphasen in o,ooo12 molarer Lösung unmittel-

bar nach Behandlung (Abb. 2h).

Klärung der sensiblen Phase im Zellzyklus, in der die Chromosomenstörungen bei Thujaplicin induziert werden:

Aus dem in Tabelle I geschilderten Versuch ist eine deutliche Zunahme der Chromosomenstörungen ab zwei bis drei Stunden Behandlung zu ersehen, also nach etwas mehr als dem Zeitraum, den REVELL (1953) für einen Mitoseablauf bei günstigen Teilungstemperaturen für nötig hält. Demnach müßten die Ereignisse, die zu Chromosomenaberrationen führen, im letzten Interphasestadium oder spätestens am Übergang zur Prophase geschehen.
Um genauere Aussagen darüber zu bekommen, ob die für Chromosomenaberrationen bevorzugte sensible Phase noch in der Interphase oder schon in der Prophase liegt, wird in dem folgenden Versuch die Thujaplicinbehandlung mit einer Colchicinvorbehandlung kombiniert. Eine ähnliche Versuchsanordnung zur Markierung einer bestimmten Zellpopulation mittels Colchicin führten schon ÖSTERGREN und WAKONIG (1954a) durch.
Vicia faba Wurzeln wurden mit einer o,o5% Colchicinlösung zwei Stunden vorbehandelt, weshalb während der anschließenden vierstündigen Einwirkung von Thujaplicin nur noch Colchicinmeta- und anaphasen getroffen werden konnten. Nach weiteren 24 Stunden Erholung wurden 12 Wurzelspitzen fixiert und die Aberrationen in den diploiden und tetraploiden Zellen ausgewertet. Die Ergebnisse zeigt folgende Tabelle:

Wurzelspitze	Gesamtaberrationen	diploid		tetraploid		Aberrat.(%) diploid / tetraploid
		Fragmente	Brücken	Fragmente	Brücken	
1	16	1o	3	3	o	4,3 : 1
2	16	11	1	3	1	3,o : 1
3	14	9	2	3	o	3,7 : 1
4	22	14	3	4	1	3,4 : 1
5	16	11	1	3	1	3,o : 1
6	8	5	2	1	o	7,o : 1
7	8	4	1	3	o	1,7 : 1
8	26	16	3	6	1	2,7 : 1
9	2o	14	2	3	1	4,o : 1
1o	9	6	1	o	2	3,5 : 1
11	12	7	4	1	o	11,o : 1
12	1o	6	1	3	o	2,3 : 1
Gesamt	177	113	24	33	7	4,1 : 1

Diese größere Häufigkeit von Aberrationen in den diploiden Zellen bedeutet, daß bevorzugt die Kerne, die während der Colchicinbehandlung in Interphase waren, durch die chromosomenbrechende Wirkung von Thujaplicin beeinflußt wurden.

Analyse der Chromosomendefekte mittels Colchicinnachbehandlung.

Um genauer analysieren zu können, ob die Ana- und Telophasen ihre Brücken und freien Fragmente nur durch Verklebung bzw. anschließendes Zerreißen der Verklebungsbrücken bekommen, oder ob auch Brüche und Translokationen dabei eine wesentliche Rolle spielen, wurden Vicia faba Wurzeln nach 4-stündiger Einwirkung von o,ooo5 molarer Thujaplicinlösung für zwei Stunden mit o,o5% Colchicinlösung nachbehandelt. Das Ergebnis für 12 Wurzelspitzen zeigt folgende Tabelle:

Wurzel-anzahl	Gesamt-aberra-tionen	End-haf-ten	inter-kalares Haften	Frag-mente	Trans-loka-tionen
1	17	4	3	2	8
2	16	8	2	1	5
3	7	4	o	1	2
4	19	7	3	2	7
5	21	9	2	4	6
6	13	6	3	2	2
7	18	7	3	3	5
8	14	6	o	4	4
9	16	5	2	1	8
1o	6	1	2	o	3
11	8	5	1	1	1
12	15	6	o	1	8
Gesamt	17o	68	21	22	59

Die Chromosomen- und Chromatidaberrationen, die Thujaplicin verursacht, beruhen also nicht nur auf der großen Verklebungstendenz. Neben Endverklebung (Abb. 3e,3f,3i) und interkalarem Haften werden auch Fragmentation und Translokationen (Abb. 3a, 3b,3c) ausgelöst.

Tabelle I

Normale und abnorme Meta-, Ana- und Telophasen unmittelbar nach verschiedenen Behandlungszeiten mit einer o,ooo5 molaren Thujaplicinlösung

Behandl. in Std	Gesamt-mitosen	Gesamt-störung in %	Verteil. störung in %	Chromos. störung in %	Pyknot. Kerne in %	Klein-kerne
o	3651	o,6	o,2	o,2	o,2	13
1	598	6,1	3,7	o,7	1,7	14
	334	3,6	1,5	o,9	1,2	7
	295	2,2	o,5	1,o	o,7	6
Gesamt	1227	4,o	1,9	o,9	1,2	27
2	173	25,9	2o,7	2,3	2,9	1o
	158	2o,9	17,1	3,2	o,6	11
	215	21,4	15,8	3,7	1,9	21
	262	2o,6	15,7	2,6	2,3	26
	24o	21,3	15,4	4,6	1,3	18
Gesamt	1o48	22,o	16,9	3,3	1,8	86
3	181	7o,1	45,8	13,8	1o,5	31
	252	64,6	46,8	9,5	8,3	29
	179	68,1	48,o	11,2	8,9	16
	183	69,4	44,3	16,9	8,2	25
	226	68,5	5o,4	8,8	9,3	22
Gesamt	1o21	68,1	47,1	12,o	9,o	123
4	395	98,7	14,4	16,2	68,1	39
	23o	98,3	22,2	13,9	62,2	18
	143	98,5	14,6	11,2	72,7	2o
	335	1oo,o	6,6	4o,3	53,1	35
Gesamt	11o3	98,9	14,3	2o,4	64,2	112

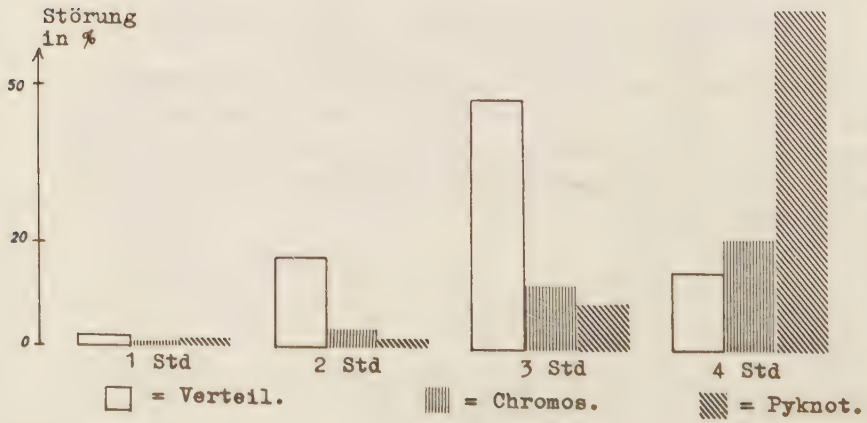
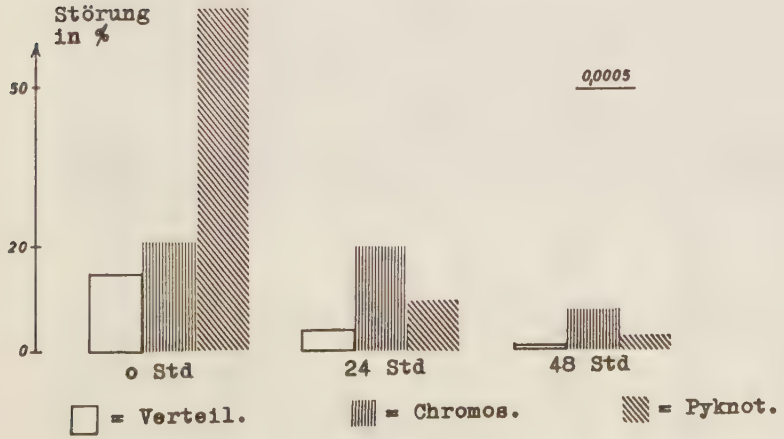


Tabelle II

Normale und abnorme Meta-, Ana- und Telophasen in verschiedenen Konzentrationsstufen nach 4-stündiger Behandlung und nach verschiedenen Erholungszeiten

Konzentr./ Erholung mol/Std	Gesamt-mitosen	Gesamt-störung in %	Verteil. störung in %	Chromos. störung in %	Pyknot. Kerne in %	Klein-kerne	Wurzel-zahl
Kontrolle	3651	o,6	o,2	o,2	o,2	13	3
o,ooo5/o	11o3	98,9	14,3	2o,4	64,2	112	4
" /6	keine Mitosetätigkeit						
" /24	1o15	32,9	3,7	19,9	9,3	53o	5
" /48	1o11	1o,9	o,5	7,5	2,9	24o	3
Kontrolle	3523	o,5	o,2	o,2	o,1	9	3
o,ooo25/o	1o69	68,9	8,8	26,2	33,9	84	3
" /6	1o98	32,8	o,6	19,3	12,9	297	3
" /24	1474	17,6	o,4	4,9	12,3	19o	3
" /48	2388	6,9	o,5	2,6	3,8	128	3
Kontrolle	3479	o,6	o,3	o,2	o,1	7	3
o,ooo12/o	1971	14,6	2,7	1o,o	1,9	42	3
" /6	1344	13,5	o,8	6,8	5,9	193	3
" /24	2167	4,1	o,5	1,9	1,7	4o	3
" /48	2813	2,4	o,2	o,7	1,5	35	3



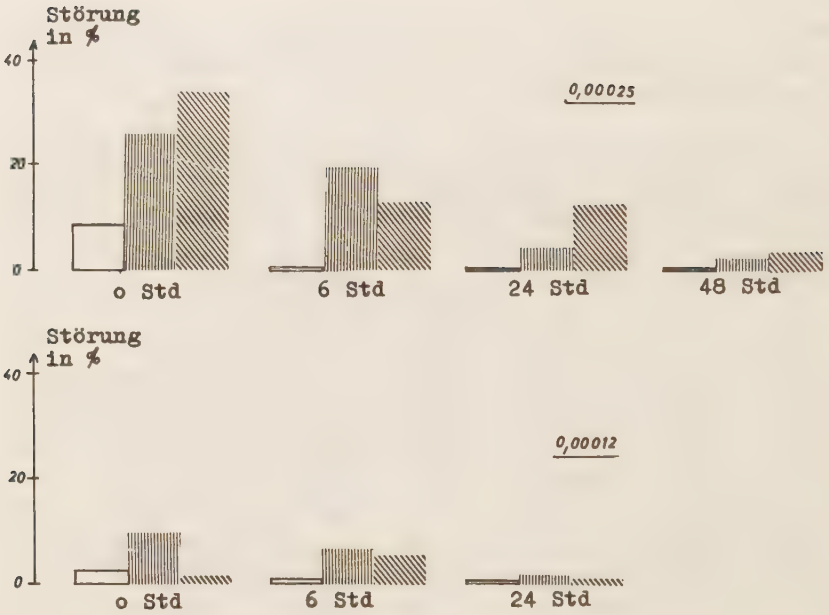


Tabelle III

Ana- und Telophasen - normal und mit chromosomalen Struktureffekten - nach 4-stündiger Behandlung und nach verschiedenen Erholungszeiten in verschiedenen Konzentrationsstufen

Konzentr./ Erholung mol/Std	Gesamt-mitosen	Gesamt-struktur-störungen	Frag-mente	Struktur-Brücken	Telo-phase-brücken	Verkle-bungs-brücken
Kontrolle	1725	2	-	2	-	-
o,ooo5/o	396	249	15	1	6o	173
" /6	keine Mitosetätigkeit					
" /24	55o	151	17	34	56	44
" /48	543	75	2o	15	31	9
Kontrolle	174o	4	1	-	2	1
o,ooo25/o	524	275	14	16	138	1o7
" /6	672	262	13	19	195	35
" /24	672	69	28	25	15	1
" /48	1122	61	21	24	4	12
Kontrolle	16o3	8	2	3	1	2
o,ooo12/o	822	198	16	9	138	35
" /6	664	92	1o	29	35	18
" /24	1o62	42	19	17	1	5
" /48	1334	2o	7	1o	1	2

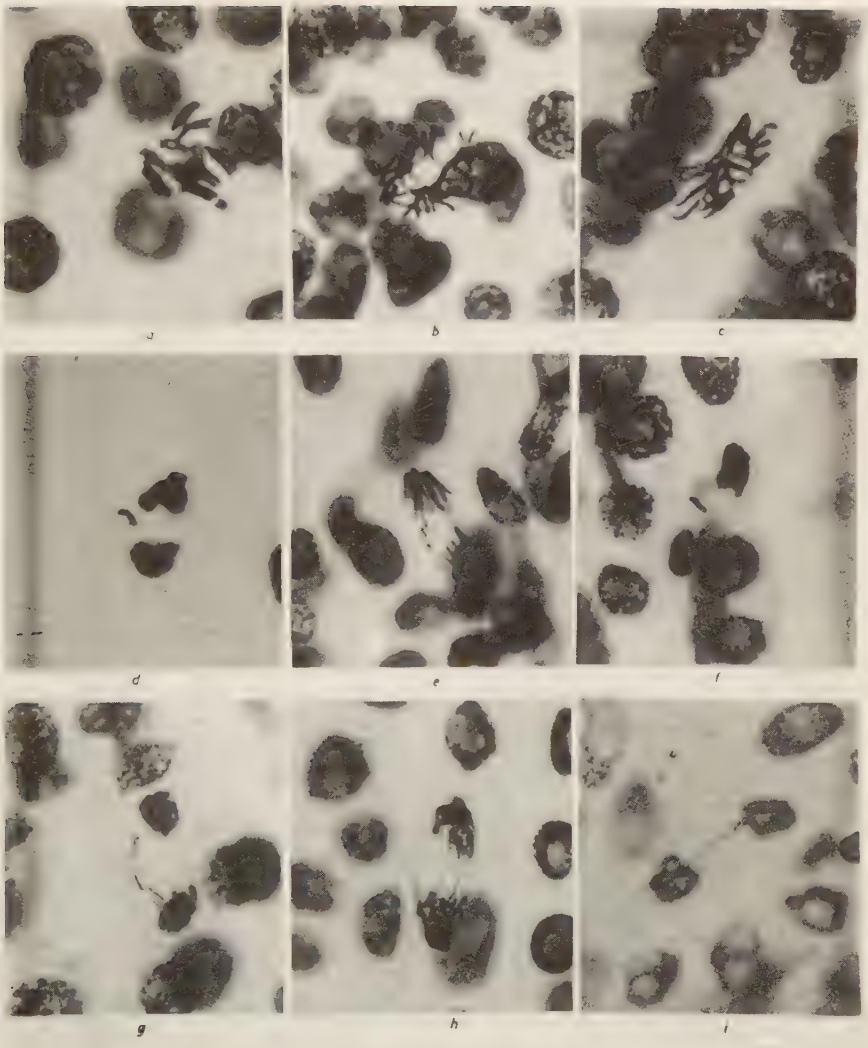


Abb. 1 a-i: Wirkung von Thujaplicin. a-c Stathmokinese; d-g Fragmente; h,i Brücken. a-d o,oooo5/Beh. 4/Erh. o; e-i o,oooo5/ Beh. 4/Erh. 48

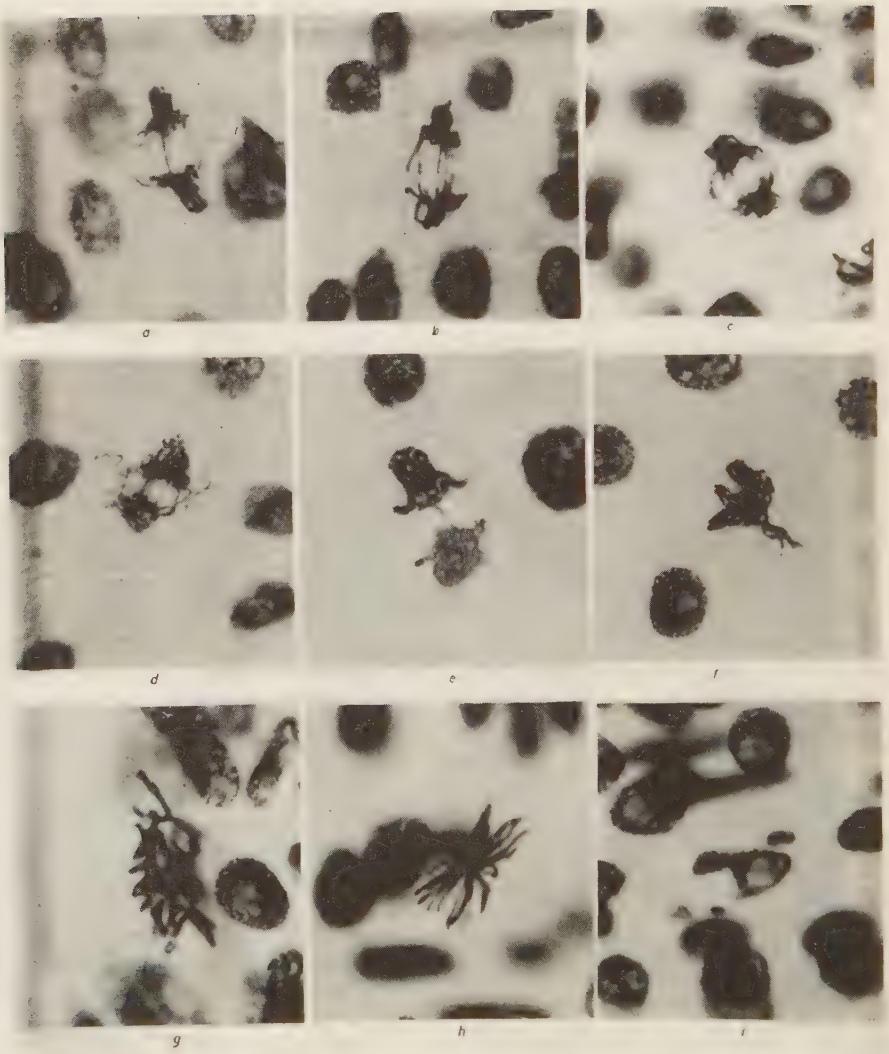


Abb. 2 a-i: Wirkung von Thujaplicin. a-c Sticky-Anaphasebrücken; d Sticky-Telophasebrücke; e Telophasebrücke; f Pyknose; g hyperploide Mitose; h Staranaphase; i Kleinkerne. a-f und i o,ooo5/Beh. 4/Erh. o; g o,ooo5/Beh. 4/Erh. 24; h o,ooo12/Beh. 4/Erh. o.

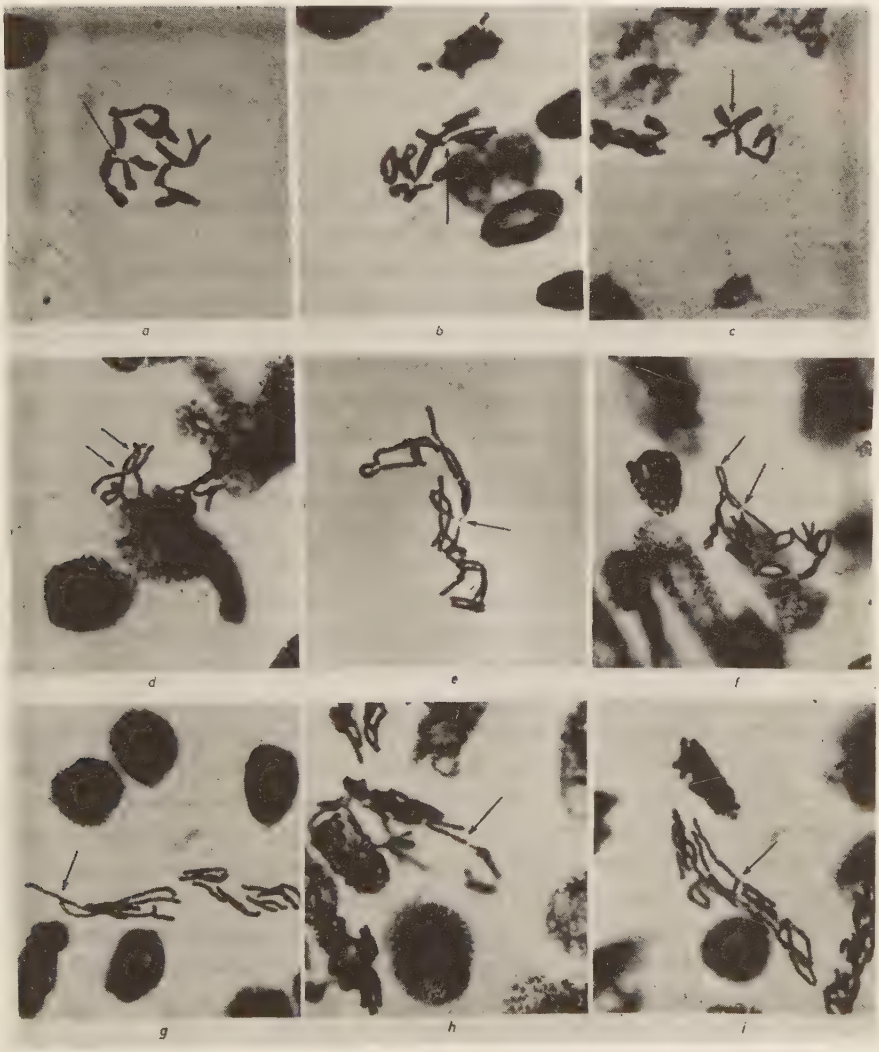


Abb. 3 a-i: Wirkung von Thujaplicin mit Colchicinnachbehandlung. a-i Beh. 4/Erh. o/Colchicin 2

2. Thujon

Eine o,oo5 molare wässrige Lösung wirkt nach 24-stündiger Behandlung toxisch. Untersucht wird eine Verdünnungsreihe von o,oo2 bis o,ooo5 molar. Bei allen Versuchen treten keine äußerlichen Schäden der Wurzeln auf.

Die Ergebnisse für zunehmende Behandlungszeit mit o,oo2 molarer Lösung zeigt Tabelle IV. Bereits nach einer Stunde erreicht die Gesamtstörung 4o%, wobei vor allem die Metaphasen starken Anteil daran haben. Sie zeigen neben deutlicher Stathmokinese häufiges Verkleben einzelner bis mehrerer Chromosomen, sowie Verklumpen aller Chromosomen zu pyknotischen Kernen, wie sie schon bei Thujaplicin beschrieben sind. Relativ seltener sind dagegen die Anomalien der Ana- und Telophasen. Es kommt nur in wenigen Fällen zur Streuung der Chromatiden im Kernraum, doch finden sich bipolare Anaphasen, bei denen nur ein Pol stathmokinetisch gestört wirkt. Auch liegen vereinzelt neben solchen abnormen Anaphasen kleine Hyalintropfen, wie sie bereits GAULDEN und CARLSSON (1951) bei hohen Colchicingaben fanden und als Spindelsubstanz beschrieben. Die Verklebung wirkt sich in der Ana- und Telophase noch stärker als in der Metaphase aus. Die Chromosomenenden haften vielfach noch sehr lange aneinander und bilden Sticky-Brücken (Abb. 4g).
Nach zwei Stunden hat sich der Anteil der Verteilungsstörungen und Chromosomendefekte am Mitosegeschehen merklich vergrößert. Die Verteilungsschäden betreffen jetzt gleichermaßen Meta- und Anaphasen, wirken aber differenzierter. Außer überwiegend rein stathmokinetischen Effekten treten Gruppenbildungen in der Metaphaseplatte auf, sowie non-disgression (Abb. 5b) und Dreipoligkeit (Abb. 4a) in der Anaphase. Die hohe Zahl der Kleinkerne resultiert vorwiegend aus drei immer nahe beisammenliegenden Chromosomengruppen, von denen meist noch zwei miteinander verklebt sind. Dreikernige Zellen in größerer Anzahl erwähnt zwar schon SIEBS (1960), doch sind sie dort aus den "metaphase à trois groupes" (DUSTIN und PARMENTIER 1953, PARMENTIER 1953) hervorgegangen und nicht etwa aus tripolaren Mitosen. Die Strukturschäden haben sich verdreifacht, wobei besonders die hohe Zahl der freien Fragmente verantwortlich ist (Abb. 4h).

Nach drei Stunden sinkt die Gesamtmitosezahl pro Wurzelspitze, ähnlich wie bei Thujaplicin mit Zunahme der pyknotischen Kerne. Anteil und Charakter der Spindelstörungen bleiben unverändert, während Strukturanomalien und Kleinkerne stark ansteigen. Letztere sind vor allem die schon erwähnten "Dreierkerne".

Nach vier Stunden (Tabelle V) scheint der Höhepunkt der Mitosegiftwirkung erreicht oder schon überschritten zu sein, denn die Gesamtstörungsrate streut nun deutlicher in den einzelnen Wurzeln. Ihre insgesamt leicht rückläufige Tendenz beruht allein auf einer Abnahme der pyknotischen Kerne. Dagegen verschiebt sich die Störungsart des mitotischen Bewegungsapparates weiter zugunsten von Stathmokinesen, denn mehrpolige Anaphasen (Abb. 4b,4c) kommen nur noch selten vor. Dafür treten unterschiedlichere Spindelanomalien in der Metaphase auf. Neben totalem Spindelausfall (Abb. 4d) kommt es zwar zu einer sauberen Einordnung der Chromosomen in die Äquatorplatte, aber dort werden die Chromosomen telomorph in situ. Daneben bilden sich vereinzelt Ringe nach Verkleben von Chromosomenenden, sowie Gruppenmetaphasen, die aber ebenfalls überaltert wirken (Abb. 5c). Außerdem findet sich zu diesem Zeitpunkt auch noch non-disgression (Abb. 5a). Die während der Behandlungszeit laufend gestiegene Zahl der Strukturdefekte nimmt in dieser weiteren Stunde leicht ab. Obwohl die "Dreierkerne" weitgehend verschwinden, bleibt die Zahl der Zellen mit Kleinkernen (Abb. 5h) fast unverändert.

Nach 24 Stunden Behandlung mit o,oo2 molarer Lösung (Tabelle VI) setzt sich die schon nach vier Stunden erkennbare Abnahme der Gesamtstörungsrate der Kerne fort, ein Effekt, wie ihn KECK und HOFFMANN-OSTENHOF (1956) bei Einwirkung von Gewebeextrakten von Allium cepa auf das Wurzelmeristem von Allium cepa feststellen konnten. Das gleichzeitig geringere Wachstum der Wurzelspitzen könnte auf eine mehr oder weniger rasche letale Fixierung des zu Versuchsbeginn gegebenen Zustandes deuten, was sich offenbar in der Abnahme der Störungsrate ausdrückt. Nach dieser langen Behandlungszeit sind mehrpolige Anaphasen völlig verschwunden, die Schäden am Bewegungsapparat wirken also rein stathmokinetisch (Abb. 4f), doch weisen sie keine

Gruppenbildungen mehr auf. Dagegen macht sich eine neue Störungsform stark bemerkbar: 23% aller Prophasen erscheinen überaltert, ihre Chromosomen sind sehr verkürzt und zeigen zuweilen eine ähnliche Lage wie in stathmokinetischen Metaphasen (Abb. 4i). Über solche Prophasevergiftungen berichten bereits MARQUARDT (1938), HENSHAW (194o), D'AMATO (1949) und BAUCHINGER (1964). Bei einigen dieser Prophasen scheinen schon endomitotische Replikationen stattgefunden zu haben. Neben Restitutionskernen (Abb. 5g) finden sich zu diesem Zeitpunkt auch hypoploide Kerne (Abb. 5d,5e). Sie zeigen, daß solche Kerne, die wahrscheinlich infolge von Fehlverteilung während der letzten Mitose entstanden sind, noch lebensfähig bleiben. Doch konnten unter 1ooo Mitosen nur etwa drei oder vier beobachtet werden. Dagegen scheinen polyploide Kerne nicht gebildet zu werden.

In den Erholungszeiten gehen alle Defekte deutlich und schnell bis fast auf die Kontrollwerte zurück (Tabelle V). Außerdem hat sich hier die schon nach 4-stündiger Behandlung erkennbare Mitosehemmung mit anschließender Überalterung der einzelnen Mitosephasen noch verstärkt. Doch scheint nun schon der Übergang zur Prophase von dieser Hemmung betroffen zu sein, da die Prophaseanzahl sehr klein ist, obwohl die Interphasekerne noch keine sichtbare Schädigung aufweisen. Trotzdem nimmt die Gesamtstörungsrate ab, wenn man die überaltert wirkenden, aber sonst normalen Mitosestadien, vor allem Anaphasen, nicht als geschädigt zählt. Denn diese Kerne scheinen ihren Mitosezyklus, zwar verzögert, aber doch voll durchlaufen zu können. Bei den Verteilungsanomalien herrschen neben gelegentlichen Dreigruppenmetaphasen vor allem jene gestörten Metaphasen vor, die bereits nach 4-stündiger Behandlung gefunden wurden. Diese "Zifferblattmetaphasen" machen nach sechs Stunden Erholung fast 5o% aller Verteilungsstörungen aus. Da nur relativ selten entsprechende Anaphasen beobachtet werden können, dürfte der hohe Anteil der "Zifferblattmetaphasen" auch auf einer Anhäufung infolge Überalterung beruhen. Solche für Thujonbehandlung typische Metaphasen (Abb. 4e) treten sogar noch nach 48 Stunden Erholung auf. Die pyknotischen Kerne (Abb. 5f) sind meist undefinierbare Klumpen, aus denen vereinzelt Chromosomenarme ragen.

In o,oo1 und o,ooo5 molaren Thujonlösungen zeigen sich nach 4- und 24stündiger Behandlung (Tabelle VI) mit geringen Abweichungen ähnliche Störungsformen, wie nach Behandlung mit der Höchstkonzentration, wenn auch in abgeschwächtem Maße. Unter den Spindelanomalien herrschen neben einigen wenigen mehrpoligen Anaphasen die schon erwähnten "Zifferblattmeta- und anaphasen" vor. Strukturschäden finden sich in beiden Konzentrationsstufen sowohl nach 4, wie nach 24 Stunden Behandlung etwa gleich häufig. Die bei der Höchstkonzentration erkennbare Abnahme der Gesamtstörungsrate mit zunehmender Einwirkungszeit ist hier nicht gegeben, vielmehr steigert sich das Wirkungsausmaß leicht. Dagegen finden sich nach 24 Stunden auch die gestörten Prophasen, die aber prozentual nicht so sehr auffallen, außerdem ist die Prophasetätigkeit stark erhöht.

Klärung der sensiblen Phase im Zellzyklus, in der die Chromosomenstörungen bei Thujon induziert werden.

Tabelle VIa

2 Stunden Vorbehandlung mit o,o5% Colchicinlösung, 4 Stunden Einwirkung mit o,oo2 molarer Thujonlösung, 24 Stunden Erholung.

Wurzelspitze	Gesamtaberrationen	diploid		tetraploid		Aberrat.(%) diploid / tetraploid
		Fragmente	Brükken	Fragmente	Brükken	
1	21	9	3	8	1	1,3 : 1,o
2	18	4	1	1o	3	1,o : 2,6
3	11	6	1	4	o	1,7 : 1,o
4	12	3	o	7	2	1,o : 3,o
5	22	11	1	8	2	1,2 : 1,o
6	15	1o	o	3	2	2,o : 1,o
7	12	5	o	7	o	1,o : 1,4
8	13	8	2	2	1	3,3 : 1,o
9	9	3	o	5	1	1,o : 2,o
1o	7	4	1	2	o	2,5 : 1,o
11	2o	8	4	7	1	1,5 : 1,o
12	1o	2	1	5	2	1,o : 2,3
13	18	1o	4	2	2	3,5 : 1,o
14	21	9	7	4	1	3,2 : 1,o
15	14	2	1	9	2	1,o : 3,7
Gesamt	223	94	26	83	2o	1,2 : 1,o

Im Gegensatz zur Thujaplicinbehandlung kann hier, wie das Gesamtergebnis für die 15 Wurzelspitzen zeigt, keine bevorzugt erhöhte Aberrationsrate in diploiden oder tetraploiden Mitosephasen festgestellt werden. Demnach dürften die Chromosomenstörungen sowohl in der Interphase wie während der Mitose induziert werden.

Analyse der Chromosomendefekte mittels Colchicinnachbehandlung.

Die Versuche mit der Colchicinnachbehandlung unmittelbar im Anschluß an die Einwirkung von Thujon konnten nicht ausgewertet werden, da hier noch die starke Verklebung, die das Thujon auslöst, nachwirkt, so daß es zu keiner Metaphaseausbreitung kommen kann (Abb. 5i). Eine Colchicinnachbehandlung nach 24 Stunden Erholung zeigt keine Aberrationen, womit das Versuchsergebnis in Tabelle V bestätigt wird.

Tabelle IV

Normale und abnorme Meta-, Ana- und Telophasen nach verschiedenen Behandlungszeiten mit o,oo2 molarer Thujonlösung

Behandl. in Std	Gesamtmitosen	Gesamtstörung in %	Verteil. störung in %	Chromos. störung in %	Pyknot. Kerne in %	Kleinkerne
o	3293	o,6	o,1	o,3	o,2	5
1	454	46,5	28,o	4,4	14,1	9
	4oo	37,1	15,5	3,8	17,8	2o
	411	38,7	2o,o	4,4	14,1	16
Gesamt	1265	4o,9	21,4	4,2	15,3	45
2	417	78,4	47,2	12,7	18,5	62
	368	71,2	4o,8	1o,9	19,5	31
	218	78,4	44,o	18,3	16,1	34
Gesamt	1oo3	75,8	44,2	13,3	18,3	127
3	182	96,o	41,2	19,2	35,6	51
	221	94,5	4o,7	26,2	27,6	232
	187	95,1	41,2	31,5	22,4	157
	292	93,2	44,5	2o,o	28,7	139
	2o2	93,4	35,1	22,3	36,o	112
Gesamt	1o84	94,4	4o,9	23,5	3o,o	691

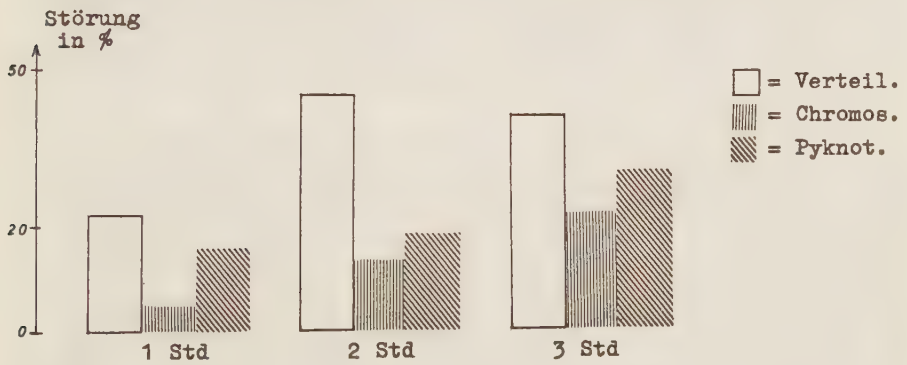


Tabelle V

Normale und abnorme Meta-, Ana- und Telophasen nach 4-stündiger Behandlung und verschiedenen Erholungszeiten mit o,oo2 m Lösung

Erholung in Std	Gesamtmitosen	Gesamtstörung in %	Verteil. störung in %	Chromos. störung in %	Pyknot. Kerne in %	Kleinkerne	Wurzelzahl
Kontrol.	3862	o,6	o,1	o,3	o,2	2o	3
o	1o95	87,1	45,6	24,7	16,8	641	5
6	1oo7	32,2	24,1	2,o	6,1	233	8
24	2662	5,2	o,8	1,2	3,2	49	3
48	38o1	1,2	o,3	o,4	o,5	32	3

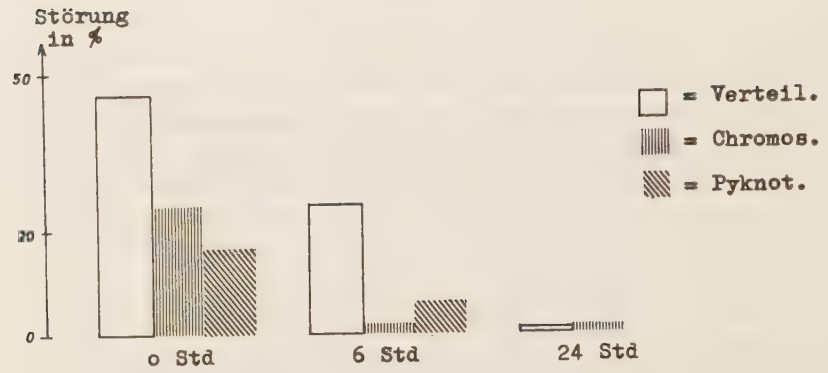
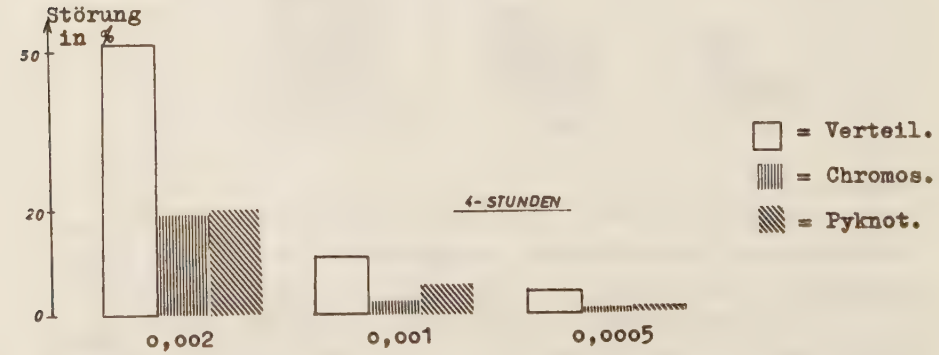


Tabelle VI

Normale und abnorme Meta-, Ana- und Telophasen nach 4 und 24-stündiger Behandlung mit verschiedenen Thujonkonzentrationen

Konzentr./ Behandl. mol/Std	Gesamt-mitosen	Gesamt-störung in %	Verteil. störung in %	Chromos. störung in %	Pyknot. Kerne in %	Klein-kerne	Wur-zel-zahl
o,oo2/o	3417	o,8	o,3	o,2	o,3	6	3
" /4	12o9	91,3	52,1	19,4	19,8	588	5
" /24	1o41	35,3	22,4	5,o	7,9	4o3	6
o,oo1/o	2985	o,5	o,1	o,2	o,2	4	3
" /4	1o11	18,1	1o,5	2,4	5,2	64	4
" /24	1o78	22,8	14,o	2,2	6,6	85	3
o,oooo5/o	3359	o,6	o,2	o,2	o,2	9	3
" /4	1o23	6,3	4,1	1,1	1,1	17	4
" /24	113o	13,1	7,5	2,2	3,4	49	4



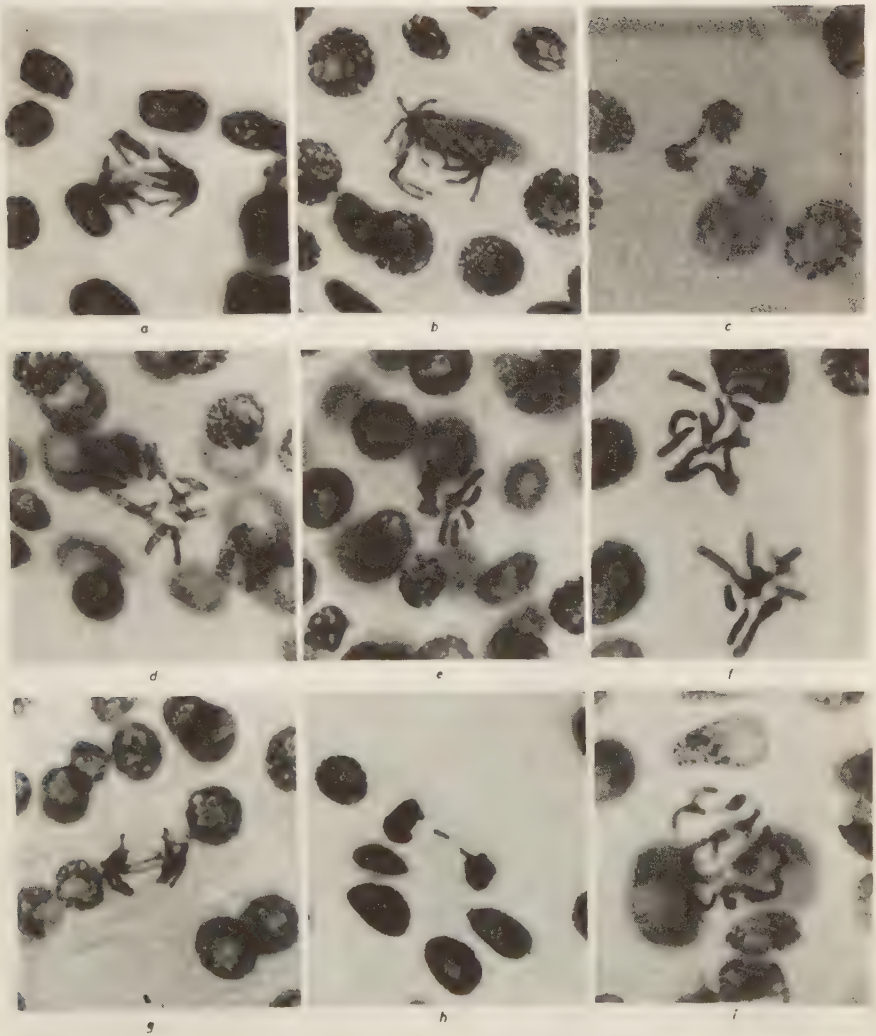


Abb. 4 a-i: Wirkung von Thujon. a-c tripolare Mitose; d,f Stathmokinese; g Sticky-Brücke; h Fragment; i Prophasestop. a,h o,oo2/Beh. 2/Erh. o; b-d o,oo2/Beh. 4/Erh. o; e o,oo2/Beh. 4/Erh. 48; f,i o,oo2/Beh. 24/Erh. o; g o,oo2/Beh. 1/Erh. o.

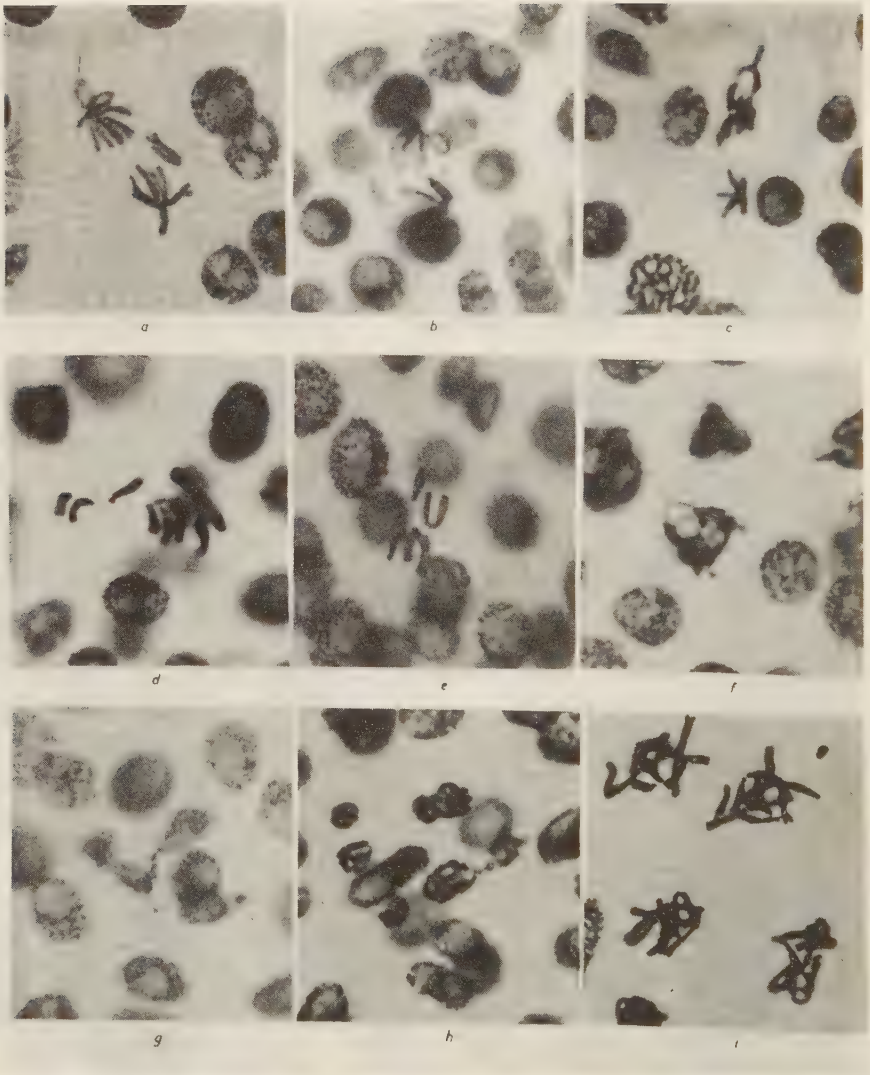


Abb. 5 a-i: Wirkung von Thujon. a,b non disgression; c Gruppenbildung; d,e hypoploide Mitose; f Pyknose; g Restitutionskern; h Kleinkerne; i Colchicinnachbehandlung. a,c,h o,oo2/Beh. 4/Erh. o; b o,oo2/Beh. 2/Erh. o; d,e,g o,oo2/Beh. 24/Erh. o; f o,oo2/Beh. 4/Erh. 24; i o,oo2/Beh. 4/Erh. o/Colchicin 2.

3. Thujylalkohol

Eine o,oo6 molare Thujylalkohollösung wirkte nach 24 Stunden Behandlung letal auf die Wurzelspitzen. Die Versuche wurden mit o,oo08, o,oo04 und o,oo02 molaren Lösungen durchgeführt.

Während der Behandlungszeit können bei diesem Teststoff äußere Schäden der Seitenwurzeln festgestellt werden. In o,oo08 und o,oo04 molaren Lösungen treten ab 9o Minuten Einwirkung blauschwarze "Binden" an den Wurzeln auf, die auch in den Erholungszeiten nicht mehr verschwinden. Auch können durch abwechselnde Behandlungs- und Erholungszeiten mehrere solcher Binden induziert werden. Daneben kommt es ab 6-stündiger Erholung zu leichten keulenartigen Verdickungen in den spitzennahen Streckungszonen der Wurzeln, die seit LEVAN (1938) als "C-Tumore" bezeichnet werden. Nach anatomischen Untersuchungen von LEVAN (1939) an Wurzelkeulen von Allium cepa, die durch Streckungswuchsstoffe induziert waren, handelt es sich vor allem um eine Aufhebung der bevorzugten Längsstreckung der Zellen. BAUCH (1952) nimmt aber eine differente Genese der Mitosegift- und Wuchsstoffkeulen an. ÖSTERGREN (1944) deutet die C-Tumore als Ergebnis von in radialer Richtung wachsenden Zellen.
Tabelle VII zeigt die Ergebnisse für zunehmende Behandlungszeiten. Thujylalkohol wirkt, ähnlich wie Thujon, in erster Linie auf den Bewegungsapparat der Mitose ein. Nach 4-stündiger Einwirkung der Höchstkonzentration ergibt sich eine starke Mitosestörung (Tabelle VIII), wobei der stathmokinetische (Abb. 6g-i) und merokinetische Effekt (Abb. 6a-f) vielfach durch Stickiness (Abb. 7a,7b) überdeckt wird, so daß es zur Ausbildung von pyknotischen Chromosomengruppen kommt (Abb. 7c). Die Chromosomen sind fast immer gleichmäßig in den stathmokinetischen Metaphasen verteilt, nur selten finden sich Gruppenbildungen. Vereinzelt kommt es zu non-congression (Abb. 7d) und non-disgression (Abb. 7e). Chromosomendefekte (Abb. 7f-i) treten in wesentlich geringerem Maße auf als bei Thujon. Sie nehmen in den Erholungszeiten ebenso rasch ab, wie die anderen Störungsarten. Eine ähnliche Abnahme der Störungsrate tritt mit Konzentrationserniedrigung des Teststoffes auf (Tabelle IX)!

Tabelle VII

Normale und abnorme Meta-, Ana- und Telophasen nach verschiedenen Behandlungszeiten mit einer o,oo08 molaren Thujylalkohollösung

Behandl. in Std	Gesamtmitosen	Gesamtstörung in %	Verteil.störung in %	Chromos.störung in %	Pyknot. Kerne in %	Kleinkerne
o	3734	o,7	o,2	o,2	o,3	15
1	514	12,8	11,1	1,3	o,4	1o
	673	15,7	14,o	o,8	o,9	4
	588	11,o	8,4	2,1	o,5	9
Gesamt	1775	13,1	11,2	1,3	o,6	23
2	473	22,4	18,4	2,1	o,9	17
	388	34,5	3o,1	3,o	1,4	8
	417	23,3	19,7	2,4	1,2	14
Gesamt	1278	26,4	22,7	2,5	1,2	39
3	417	35,5	31,2	2,5	1,8	24
	4o8	43,4	38,7	3,o	1,7	11
	361	43,9	4o,o	2,1	1,8	12
Gesamt	1186	4o,9	36,6	2,5	1,8	47

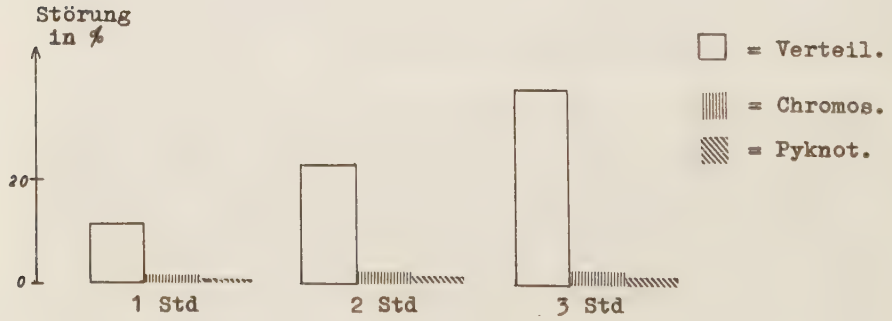


Tabelle VIII

Normale und abnorme Meta-, Ana- und Telophasen nach 4-stündiger Behandlung und verschiedenen Erholungszeiten mit einer o,oo08 molaren Thujylalkohollösung

Erholung in Std	Gesamtmitosen	Gesamtstörung in %	Verteil.störung in %	Chromos.störung in %	Pyknot. Kerne in %	Kleinkerne	Wurzelzahl
Kontrol.	3o66	o,8	o,3	o,3	o,2	11	3
o	11oo	76,3	61,3	7,5	7,5	371	5
6	12o2	14,o	9,5	1,8	2,7	137	4
24	12o8	3,4	o,7	1,4	1,3	63	3
48	1338	1,7	o,5	o,9	o,3	38	3

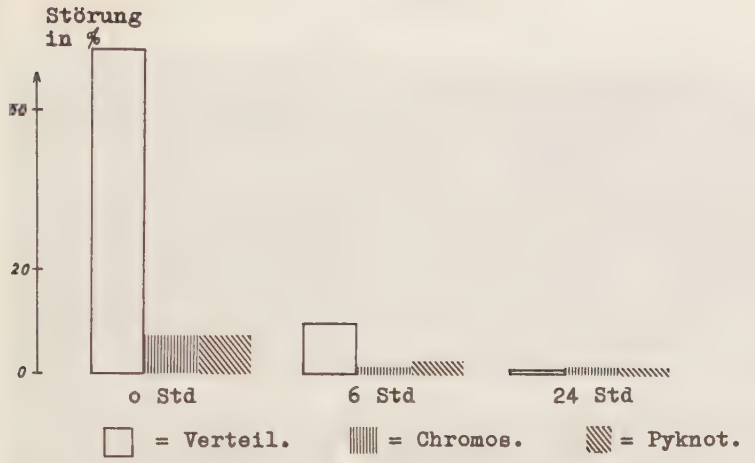
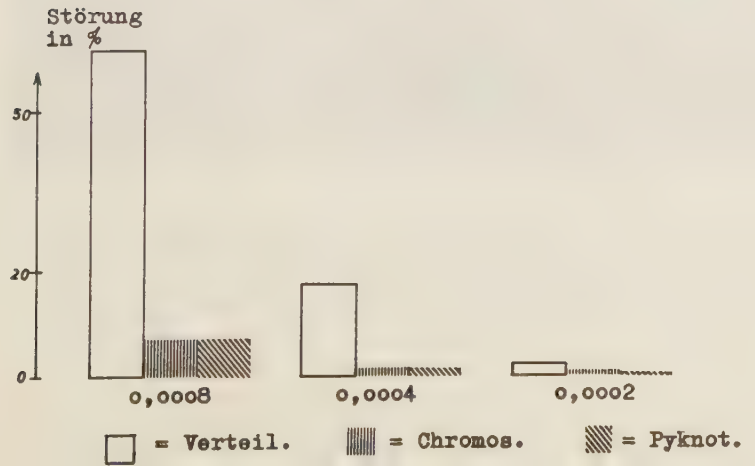


Tabelle IX

Normale und abnorme Meta-, Ana- und Telophasen nach 4-stündiger Behandlung mit verschiedenen Thujylalkoholkonzentrationen

Konzentr. in mol	Gesamt-mitosen	Gesamt-störung in %	Verteil. störung in %	Chromos. störung in %	Pyknot. Kerne in %	Klein-kerne	Wur-zel-zahl
Kontrolle	3066	0,8	0,3	0,3	0,2	11	3
0,0008	1100	76,3	61,3	7,5	7,5	371	5
Kontrolle	4113	0,5	0,2	0,1	0,2	9	3
0,0004	1073	20,2	17,5	1,3	1,4	58	3
Kontrolle	3419	0,5	0,1	0,2	0,2	18	3
0,0002	1212	3,7	2,2	1,0	0,5	27	3



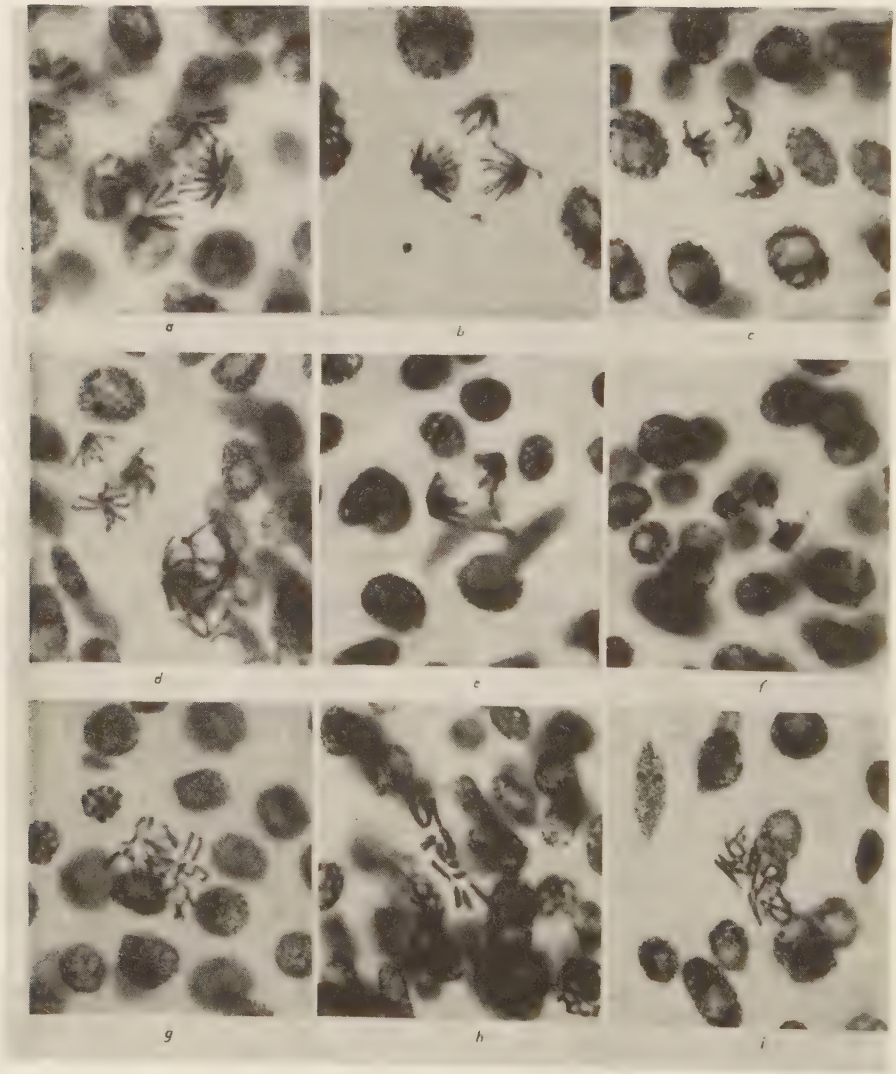


Abb. 6 a-i: Wirkung von Thujylalkohol. a-f tripolare Mitosen; g-i Stathmokinese. a,b, und d-f o,ooo8/Beh. 4/Erh. o; c und g-i o,ooo4/Beh. 4/Erh. o.

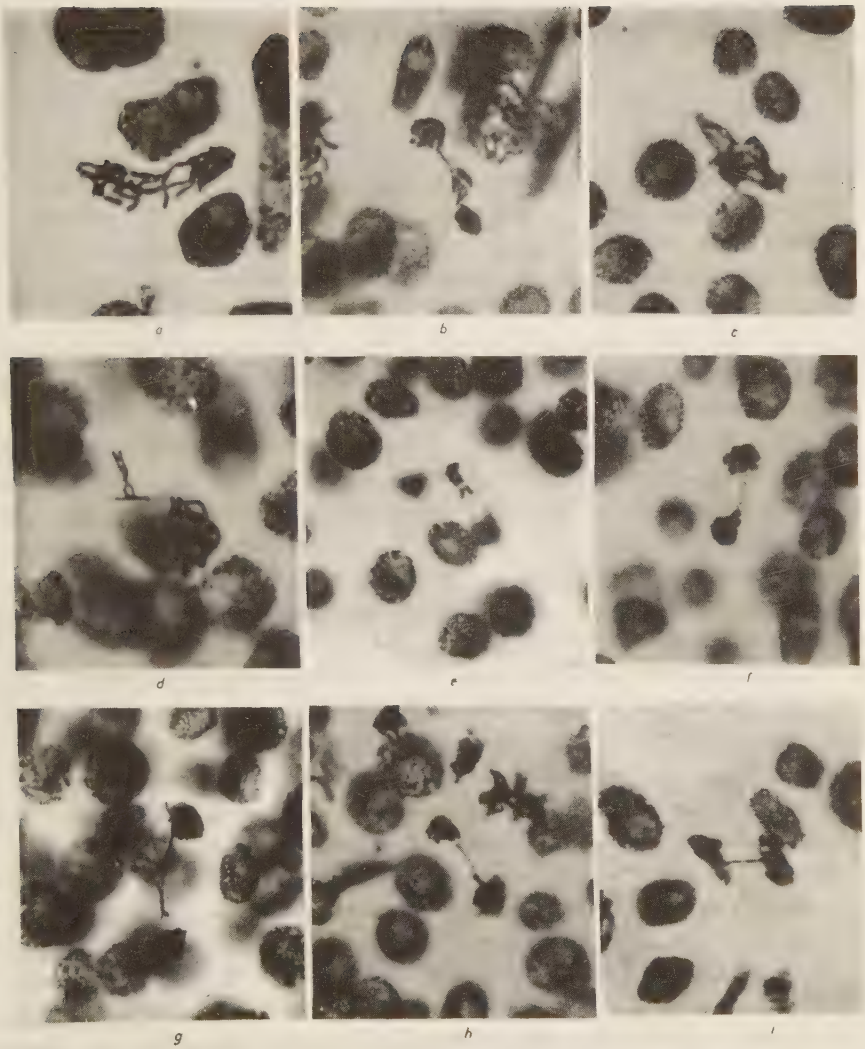


Abb. 7 a-i: Wirkung von Thujylalkohol. a,b Stickiness; c Pyknose; d non congression; e non disgression f-i Strukturstörungen. a-g o,oooB/Beh. 4/Erh. o; h,i o,ooo4/Beh. 4/Erh. o.

4. Sabinen

Wegen der geringen Wasserlöslichkeit konnten keine toxischen und subtoxischen Konzentrationen hergestellt werden. Die Untersuchungen wurden mit gesättigten (etwa o,ooo1 molar), 1/2 und 1/4 gesättigten Lösungen durchgeführt.
Die Ergebnisse für zunehmende Behandlungszeiten mit der gesättigten Lösung zeigt Tabelle X. Sabinen wirkt auf die Spindel qualitativ ähnlich wie Thujon (Abb. 8a-i), quantitativ jedoch mit zunehmender Einwirkungszeit wesentlich stärker. Die Anzahl der Spindelanomalien, die nach zwei Stunden noch sehr gering ist, steigert sich nach weiteren zwei Stunden sehr rasch. Dabei findet sich eine völlige Inaktivierung der Spindel relativ selten (Abb. 8f), meist kommt es nur zu unsauberen Einordnungen in den Spindeläquator (Abb. 8d). Nur ganz selten kann ausgeprägtes non-congression (Abb. 8g) einzelner Chromosomen beobachtet werden. Daneben finden sich Gruppenbildungen (Abb. 9f,9g), die zuweilen durch Endverklebung jenen Ringbildungen von Metaphasechromosomen ähneln, die BARTHELMESS und EINLECHNER (196o) für Äthyläther beschrieben. Trotz dieser gelegentlich auftretenden Endverklebungen gibt es hier nicht so viele pyknotische Kerne wie bei Thujon und Thujylalkohol (Tabelle X). Doch könnte dies auch von der geringeren Wasserlöslichkeit des Sabinen bedingt sein. In den Anaphasen findet man neben Spindelschrägstellung, Nachhinken von Chromatiden und non-disgression vor allem tripolare Mitosen (Abb. 8a-d); letztere machen nach 4-stündiger Behandlung ca. 3o% der gesamten Spindelstörungen aus. Relativ selten werden Strukturschäden verursacht (Abb. 9a-c), die nur unmittelbar nach 4-stündiger Behandlung, sowie nach anschließenden 24 Stunden Erholung einige wenige Prozent der Gesamtstörung ausmachen können. Brücken wie in Abb. 9d und 9e dürften, da Stickiness nur selten auftritt, echte Strukturbrücken sein und von dizentrischen Chromosomen stammen. Genau wie bei Thujon finden sich dreikernige Zellen (Abb. 9h-i), die hier wahrscheinlich Folgeerscheinungen von tripolaren Mitosen darstellen. In den Erholungszeiten (Tabelle XI), sowie in niederen Konzentrationsstufen (Tabelle XII) nehmen die Defekte, sowie die Kleinkerne rasch ab.

Tabelle X

Normale und abnorme Meta-, Ana- und Telophasen nach verschiedenen Behandlungszeiten mit gesättigter wässriger Sabinenlösung

Behandl. in Std	Gesamt-mitosen	Gesamt-störung in %	Verteil. störung in %	Chromos. störung in %	Pyknot. Kerne in %	Klein-kerne
o	5765	o,8	o,5	o,2	o,1	39
	831	2,3	2,2	o,1	o,o	1o
2	774	4,9	4,2	o,4	o,3	12
	471	4,2	3,6	o,4	o,2	7
Gesamt	2o76	3,8	3,3	o,3	o,2	29
	198	23,8	22,8	o,5	o,5	17
	214	16,6	14,7	o,5	1,4	24
3	198	14,9	13,3	o,5	1,1	9
	18o	16,2	15,1	o,6	o,5	17
	223	16,2	15,3	o,4	o,4	22
Gesamt	1o13	17,5	16,2	o,5	o,8	89
	195	64,8	56,5	7,3	1,o	39
	194	61,6	57,5	3,6	o,5	16
4	23o	69,8	64,2	5,2	o,4	79
	2o1	68,9	65,9	2,o	1,o	54
	2o9	65,7	62,3	3,o	o,4	33
Gesamt	1o29	66,2	61,5	4,o	o,7	221

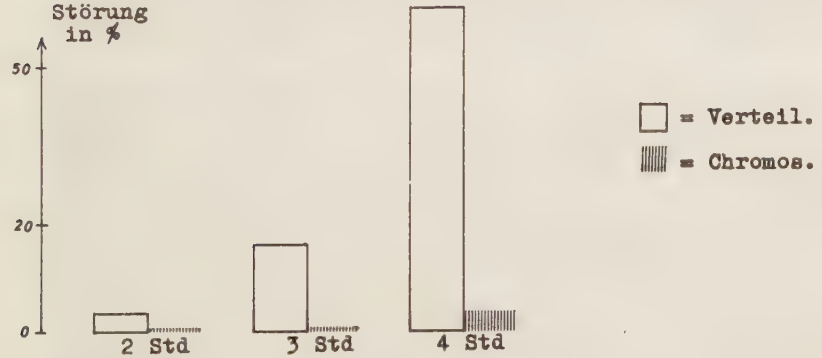


Tabelle XI

Normale und abnorme Meta-, Ana- und Telophasen nach 4-stündiger Behandlung und verschiedenen Erholungszeiten mit gesättigter wässriger Sabinenlösung

Erholung in Std	Gesamt-mitosen	Gesamt-störung in %	Verteil. störung in %	Chromos. störung in %	Pyknot. Kerne in %	Klein-kerne	Wur-zel-zahl
Kontrolle	5765	o,8	o,5	o,2	o,1	39	3
o	1o29	66,2	61,5	3,9	o,8	221	5
6	1152	4,5	3,6	o,3	o,6	51	3
24	32o6	3,7	1,1	2,2	o,4	126	
48	2884	1,3	o,4	o,8	o,1	8o	

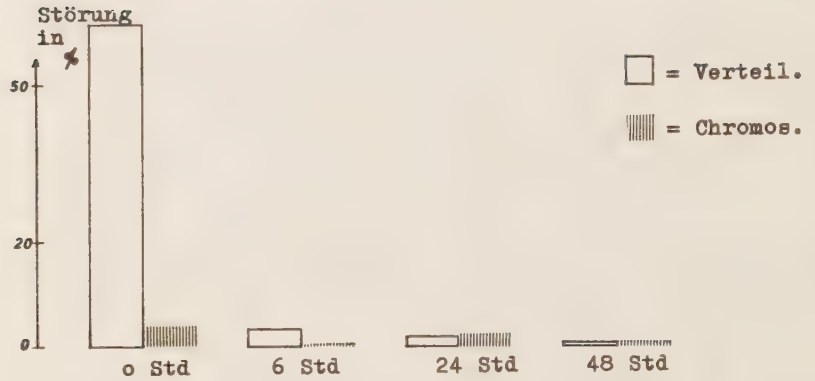


Tabelle XII

Normale und abnorme Meta-, Ana- und Telophasen nach 4-stündiger Behandlung mit verschiedenen Sabinenkonzentrationen

Konzentr.	Gesamt-mitosen	Gesamt-störung in %	Verteil. störung in %	Chromos. störung in %	Pyknot. Kerne in %	Klein-kerne	Wur-zel-zahl
Kontrolle	5765	o,8	o,5	o,2	o,1	39	3
gesätt.	1o29	66,2	61,5	3,9	o,8	221	5
Kontrolle	4837	o,9	o,4	o,3	o,2	28	3
1/2 gesät.	1121	38,1	36,1	1,7	o,3	69	3
Kontrolle	5118	o,8	o,4	o,2	o,2	31	3
1/4 gesät.	1284	7,6	6,5	1,o	o,1	22	3

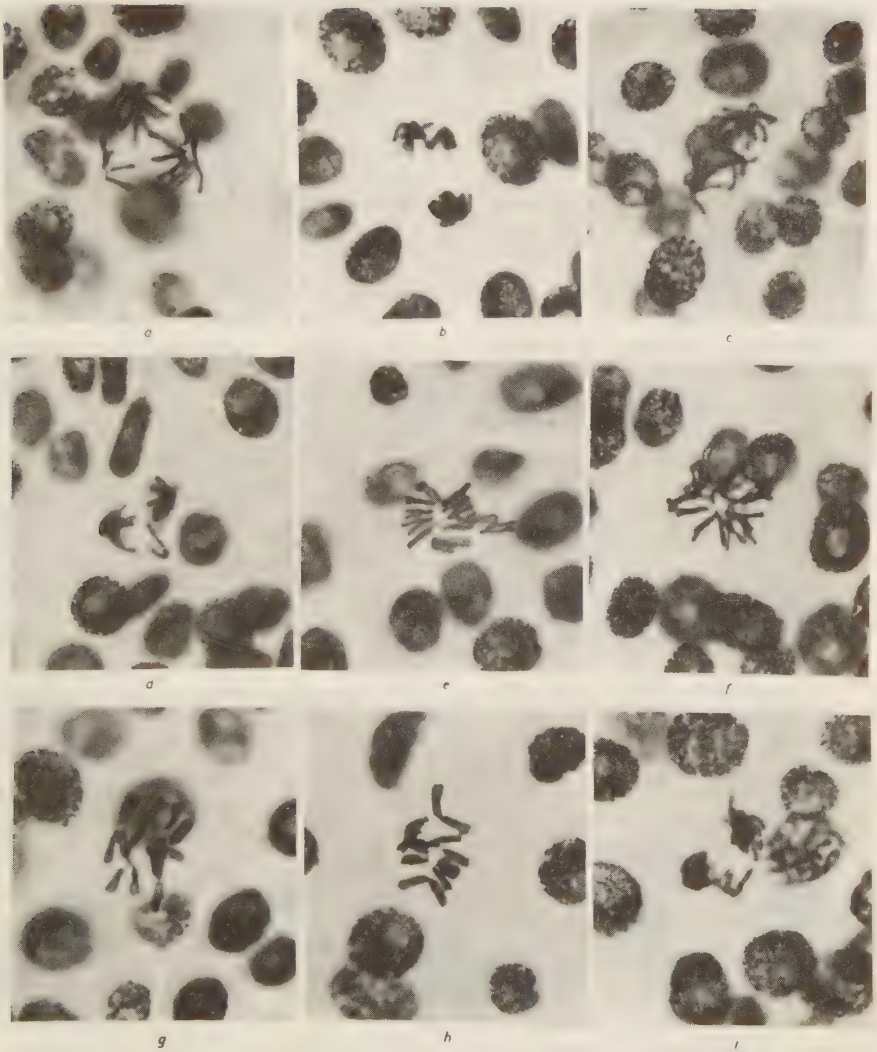


Abb. 8 a-i: Wirkung von Sabinen. a-d tripolare Mitosen; e non congression; f-h Stathmokinese; i leichte Verteilungsstörung. a-i gesättigte Lösung/Beh. 4/Erh. o.

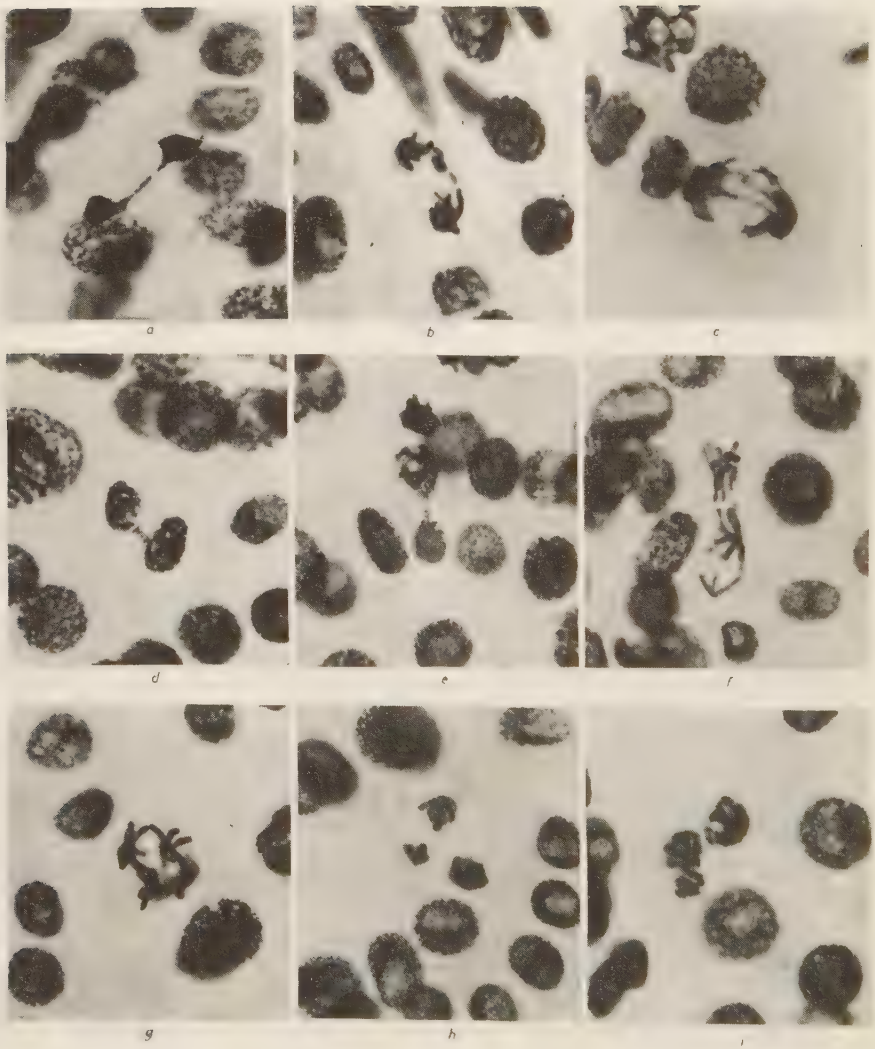


Abb. 9 a-i: Wirkung von Sabinen. a-c Strukturschäden; d,e Telophasebrücken; f,g Gruppenbildungen; h,i dreikernige Zellen. a-i gesättigte Lösung/Beh. 4/Erh. o.

5. Aloe-Emodin-glucosid

Als höchste Konzentration wurde eine o,oooo4 molare wässrige Lösung gewählt, sowie als Verdünnungsstufen o,oooo2 und o,oooo1 molar. Äußere Schäden an den Wurzeln konnten während der Behandlungs- und Erholungszeiten nicht festgestellt werden.

Nach vier-stündiger Behandlungszeit (Tabelle XIV) weisen viele Zellen einen vergrößerten Kernraum auf. Da die Chromosomen nicht zahlreicher sind, kann es sich dabei nur um eine Quellung des achromatischen Kerninhaltes handeln. Aus der Tatsache, daß die Chromosomen in Meta- und Anaphase etwas länger sind als in den entsprechenden Wasserkontrollen, kann man außerdem auf eine verminderte Spiralisierung der Chromosomen schließen.
Unmittelbar nach dieser Einwirkungszeit, sowie nach anschließenden Erholungszeiten können in Meta- und Anaphase keine Anzeichen von Spindelstörungen festgestellt werden. Bei den auftretenden 3o% Anomalien handelt es sich fast ausschließlich um chromosomale Strukturänderungen, da Stickiness, die zur Ausbildung von Verklebungsbrücken mit eventuell folgenden Zerrbrüchen führen kann, äußerst selten vorkommt. Die Strukturschäden werden bis auf wenige Ausnahmen nur in Ana- und Telophase gefunden. Neben Brüchen, die zu freien (Abb. 1oa,1og) oder verbundenen (attached) Fragmenten (Abb. 1oh,1oi,11f,11g) von Chromosomen oder Chromatiden führen, finden sich vor allem dizentrische Brücken (Abb. 11a,11b,11d), die wegen der schon erwähnten geringfügigen Stickiness mit Sicherheit als Folgeerscheinung von Brüchen und anschließenden Reunionsvorgängen angesehen werden können. Diese dizentrischen Brücken brechen beim Übergang zur Telophase ab (Abb. 1oi), da nur selten Brücken in der Telophase zu sehen sind. Neben solchen Einzelbrücken finden sich Doppelbrücken, wie "criss-cross" (Abb. 11e) und "interlocking" (Abb. 11c). Auch gibt es cytologische Bilder, die jenen nicht unähnlich sind, die LA COUR und RUTISHAUSER (1954) als Subchromatidaustausch interpretieren (Abb. 11h).
Nach sechs-stündiger Erholung nehmen alle Strukturveränderungen rasch ab. Die nun in den Ana- und Telophasen vorhandenen Fragmente (Abb. 1ob,1oc) und Brücken müssen aus strukturellen Veränderungen der Interphasechromosomen stammen, da die während

der vorangegangenen Behandlung in Mitose befindlichen Chromosomen nun in Interphasekernen eingeschlossen sind. Da zu diesem Zeitpunkt nur relativ selten Reste von Fragmenten und Brükken zwischen den Interphasekernen vorhanden sind, dürften die Chromosomenfragmente aus der Einwirkungszeit des Agens in die Ruhekerne mitverschleppt oder schon resorbiert worden sein.
Nach 24 Stunden Erholung steigern sich die Strukturschäden wieder erheblich. Da nach REVELL (1953) Vicia faba bei günstiger Teilungsgeschwindigkeit einen Zellzyklus in ca. 2o Stunden durchführt, kann es sich bei diesem Anstieg von Strukturdefekten nur um Folgeerscheinungen der während der 4-stündigen Behandlung erzeugten Anomalien handeln. Jetzt treten mehr Fragmente (Abb. 1od,1oe,1of) als Brücken auf. Gleichzeitig vergrößert sich auch die Anzahl der Kleinkerne. Da sie in Interphase- und Mitosezellen vorkommen, dürften sie auch aus den anfänglichen Interphasekernen stammen.
Nach 48 Stunden Erholung vermindern sich die Störungen an den Chromosomen wieder, sind aber immer noch zehn mal so häufig als in den entsprechenden Wasserkontrollen. Ebenso geht die Anzahl der Kleinkerne zurück.
Auch in den beiden niederen Konzentrationsstufen (Tabelle XV) induziert Aloe-Emodin-glucosid die gleichen Chromosomenschäden, nur relativ seltener.

Klärung der für die Wirkung von Aloe-Emodin-glucosid sensiblen Phase im Zellzyklus.

a) Klärung mittels Kurzzeitbehandlung:

Nach EVANS und SAVAGE (1959) dauert die Mitose von Vicia faba bei 19° Celsius ca. 18o Minuten. Wie bereits oben beschrieben, treten nach 4 Stunden Behandlung schon 3o% Chromosomendefekte in der Anaphase auf. Dies bedeutet, daß diese Schäden frühestens in der letzten Stunde der Interphase induziert wurden.
Um den Zeitraum der Induktion genauer analysieren zu können, wurden Versuche mit kürzerer Behandlungszeit durchgeführt (Tabelle XIII). Die Versuchstemperatur betrug dabei genau 19° Celsius.
Bereits nach 6o, deutlicher aber nach 9o Minuten, treten in der

Anaphase Strukturschäden auf, wobei Fragmente und dizentrische Brücken etwa gleich häufig zu beobachten sind. Nach EVANS und SAVAGE dauert aber bei der angegebenen Versuchstemperatur Prophase plus Metaphase ca. 13o Minuten. Demnach sind diese Störungen frühestens in der Prophase induziert worden. Die Annahme, daß diese sichtbaren Anaphasestörungen noch vor Beginn der Prophase induziert wurden, würde in Widerspruch zur Ansicht von REVELL (1953) und BACQ (1958) stehen, denn nach ihnen ist der zweite Teil der Interphase für Aberrationen nicht empfindlich.

b) Klärung mittels Colchicinvorbehandlung:

2 Stunden Vorbehandlung mit o,o5% Colchicinlösung, 4 Stunden Behandlung mit o,oooo4 molarer Lösung von Aloe-Emodin-glucosid, 24 Stunden Erholung.

Wurzelspitze	Gesamtaberrationen	diploid		tetraploid		Aberrat.(%) diploid / tetraploid
		Fragmente	Brücken	Fragmente	Brücken	
1	13	2	2	8	1	1 : 2,3
2	18	3	o	12	3	1 : 5,o
3	12	2	1	8	1	1 : 3,o
4	14	2	o	1o	2	1 : 6,o
5	21	4	1	14	2	1 : 3,2
6	9	1	o	6	2	1 : 8,o
7	14	4	o	1o	o	1 : 2,5
8	17	3	1	11	2	1 : 3,5
9	11	o	2	9	o	1 : 4,5
1o	4	1	o	2	1	1 : 3,o
11	1o	2	1	6	1	1 : 2,3
12	16	3	o	12	1	1 : 4,3
Gesamt	159	27	8	1o8	16	1 : 3,5

Diese größere Häufigkeit der Aberrationen in den tetraploiden Kernen, also in jenen Kernen, die während der Behandlung mit Aloe-Emodin-glucosid auf Grund des Colchicineinflusses in der Prophase verzögert oder in der Metaphase arretiert wurden, weist zusammen mit den Erkenntnissen aus der Kurzzeitbehandlung darauf hin, daß die Induktion vorwiegend in der frühen Prophase geschieht.

Analyse der Chromosomendefekte mittels Colchicinnachbehandlung.

Wurzelspitzen von Vicia faba werden nach einer 4-stündigen Behandlung mit Aloe-Emodin-glucosid, sowie nach anschließenden 24 Stunden Erholung, für zwei Stunden mit o,o5% Colchicinlösung nachbehandelt, um Verkürzung der Chromosomen und Metaphaseanreicherung zu erlangen. Das Ergebnis vermittelt folgende Tabelle:

Frholg. in Std	Gesamtaberrationen	Endhaften	interkalares Haften	Fragmente	Translokationen
o	1o	7	2	1	o
	18	11	3	3	1
	7	3	3	o	1
	24	16	5	3	o
	11	9	2	o	o
	14	7	6	o	1
	9	9	o	o	o
	2o	13	4	2	1
	21	11	7	3	o
	11	4	4	2	1
24	18	6	5	5	2
	7	2	3	2	o
	9	1	2	5	1
	1o	6	1	3	o
	17	8	4	4	1
	14	3	5	4	2

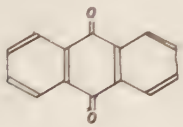
Die Colchicinbehandlung unmittelbar nach 4-stündiger Einwirkung von Aloe-Emodin-glucosid läßt deutlich, wie obige Tabelle zeigt, erkennen, daß neben einigen wenigen Fragmenten und Translokations-Metaphase-Bildern vor allem terminales (Abb. 12a-f) und interkalares Haften (Abb. 12g-i) vorkommt. Von solcher "lokalisierter Chromatidstickiness" berichtet bereits DAVIDSON (1957). Er fand diesen Effekt nach Einwirkung von Röntgenstrahlen auf Hyacinthus und Vicia faba. Nach seiner Auffassung könnte er das Ergebnis von Bruch und Reunion sein. Bezeichnenderweise ist auch dort die Prophase die sensible Phase des Zellzyklus für dessen Induktion.

Wenn zwischen der Teststoffeinwirkung und der Nachbehandlung mit der Colchicinlösung eine 24-stündige Erholungspause eingeschaltet wird, nimmt diese Bevorzugung der lokalisierten Chromatidstickiness gegenüber den Fragmenten und Translokationen ab, wie dieselbe Tabelle erkennen läßt.

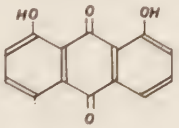
Vergleichende Versuche mit anderen Anthrachinonen zur Klärung der Konstitutionsspezifität:

Von folgenden Anthrachinonen wurden gesättigte wässrige Lösungen hergestellt, sowie Lösungen, in denen der Sättigungsgrad durch 1% Tween 2o als Lösungsvermittler erhöht war. Die Höchstkonzentration betrug für die Aglykone a - e ungefähr o,ooooo5, für die Glycoside f - g o,oooo5 molar. Mit diesen Lösungen, sowie mit je zwei Verdünnungsstufen wurden Vicia faba Wurzeln 4 und 24 Stunden lang behandelt. Unmittelbar danach, wie auch nach 24 und 48 Stunden Erholung wurden je acht Wurzelspitzen auf Chromosomen- und Spindelstörungen untersucht. Dabei konnten nur in mit Chrysazin behandelten Wurzeln Strukturschäden beobachtet werden, aber weniger als 5% und erst nach 24 Stunden Erholung. Letztere dürften daher auf Strukturänderungen in der Interphase beruhen.

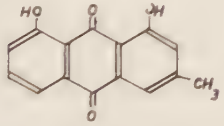
a) Anthrachinon



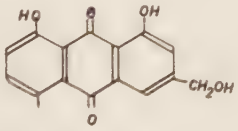
b) Chrysazin



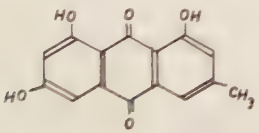
c) Chrysophansäure



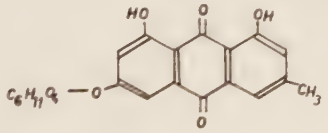
d) Aloe-Emodin



e) Frangula-Emodin



f) Frangulin



g) Sennosid

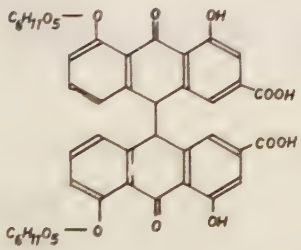


Tabelle XIII

Normale und abnorme Meta-, Ana- und Telophasen nach verschiedenen Behandlungszeiten mit einer o,oooo4 molaren wässrigen Lösung von Aloe-Emodin-glucosid

	Metaphasen		Ana-, Telophasen				
Behandl. in Std	norm.	gestört in %	norm.	Fragmente in %	dizentr. Brücken in %	Verteilstörung in %	Kleinkerne
o	2427	o,1	2365	o,2	o,1	o,1	15
1	612	o,6	561	o,9	o,7	o,3	15
	7o2	o,3	677	o,8	o,8	o,3	19
	593	o,3	584	1,o	o,8	o,4	24
Gesamt	19o7	o,4	1822	o,9	o,8	o,3	58
1,5	455	o,9	464	3,4	3,8	o,4	7
	368	o,9	3o1	1,3	1,6	1,3	18
	471	o,7	414	1,8	3,2	o,7	14
Gesamt	1294	o,8	1179	2,2	2,9	o,8	39
2	473	o,6	438	3,5	4,8	o,6	18
	514	o,8	482	3,9	4,9	o,7	14
	467	o,4	443	5,9	6,7	o,2	19
Gesamt	1454	o,6	1363	4,5	5,5	o,5	51
4	252	o,3	219	13,4	17,4	o,1	11
	226	o,2	162	13,9	2o,o	o,3	27
	267	o,3	244	8,9	13,1	o,2	18
Gesamt	745	o,3	625	12,1	16,8	o,2	56

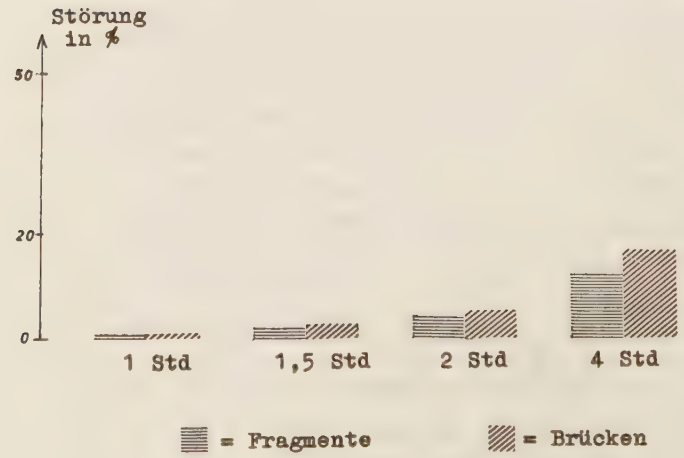


Tabelle XIV

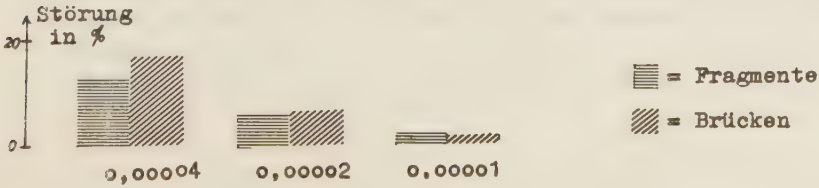
Normale und abnorme Meta-, Ana- und Telophasen nach 4-stündiger Behandlung und verschiedenen Erholungszeiten mit einer o,ooo04 molaren Lösung von Aloe-Emodin-glucosid

	Metaphasen		Ana-, Telophasen				
Erholung in Std	norm.	gestört in %	norm.	Fragmente in %	dizentr. Brücken in %	Verteil.störung in %	Kleinkerne
Kontrol.	2427	o,1	2365	o,2	o,1	o,1	15
o	745	o,3	625	12,1	16,8	o,2	56
6	983	o,8	969	1,6	1,2	o,3	38
24	984	o,7	77o	7,1	2,4	o,2	275
48	848	o,4	8o7	1,9	1,3	o,4	81

Tabelle XV

Normale und abnorme Meta-, Ana- und Telophasen nach 4-stüniger Behandlung mit o,ooo04, o,ooo02 und o,ooo01 molaren Lösungen von Aloe-Emodin-glucosid

	Metaphasen		Ana-, Telophasen				
Konzentr. in mol	norm.	gestört in %	norm.	Fragmente in %	dizentr. Brücken in %	Verteil.störung in %	Kleinkerne
Kontrolle	2427	o,1	2365	o,2	o,1	o,1	15
o,ooo04	745	o,3	625	12,1	16,8	o,2	56
Kontrolle	2323	o,2	2194	o,2	o,3	o,2	16
o,ooo02	1o17	o,9	817	6,7	6,9	o,6	22
Kontrolle	23o9	o,1	2257	o,3	o,3	o,1	18
o,ooo01	1o88	o,8	853	2,1	1,9	o,4	49



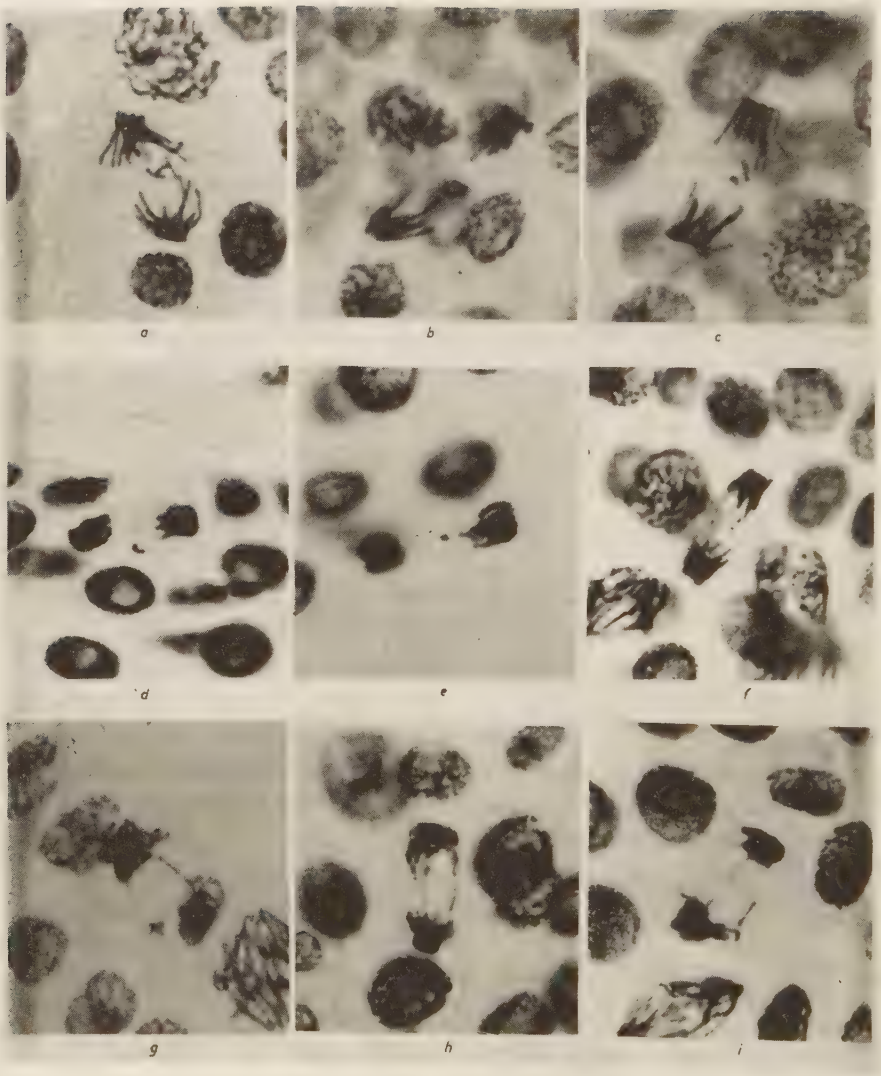


Abb. 1o a-i: Wirkung von Aloe-Emodin-glucosid. a-g freie Fragmente; h,i verbundene (attached) Fragmente. a und g-i o,oooo4/Beh. 4/Erh. o; b,c o,oooo4/Beh. 4/Erh. 6; d-f o.oooo4/Beh. 4/Frh. 24

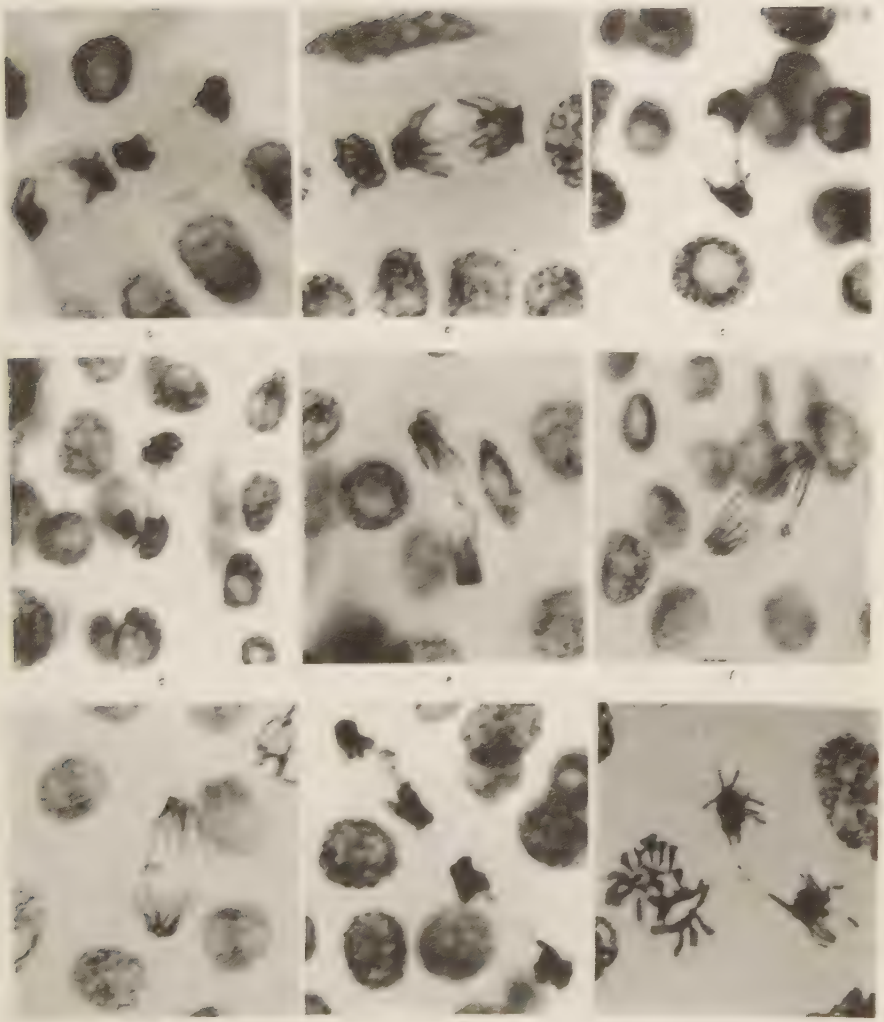


Abb. [illegible]: [illegible] wie Bierbrauerei-Hefe. a,b,c Brücken: a interlocking; c criss-cross; f,g verbundene (attached) Fragmente; d Subchromatidbruch; i Fragmente in tetraploider Mitose. a-c, e-g, [illegible] Prf., d; i Calcichrom 2 Per., 4 Prc., 2a.

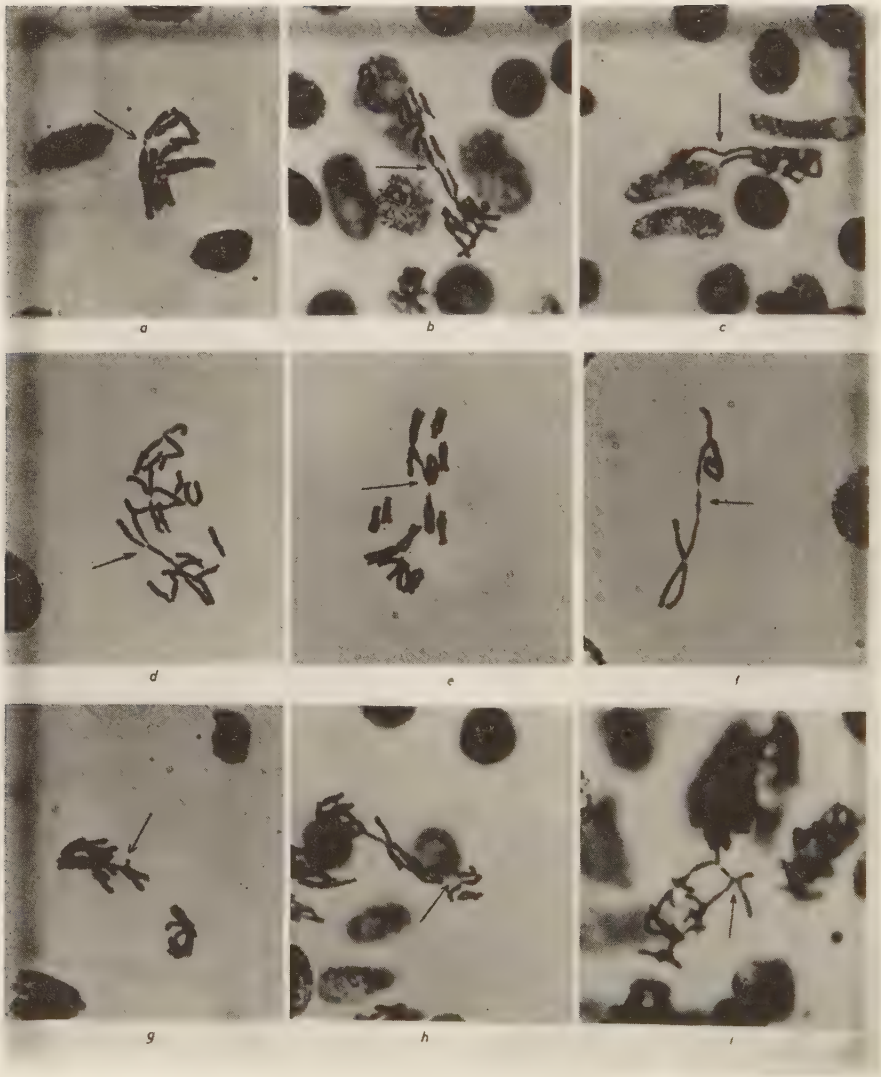


Abb. 12 a-i: Wirkung von Aloe-Emodin-glucosid mit Colchicin-nachbehandlung. a-f terminal und g-i interstitiell lokalisierte Stickiness. a-h Beh. 4/Erh. o/Colchicin 2; i Beh. 4/Erh. 24/ Colchicin 2.

D. Diskussion

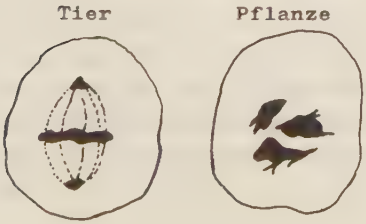
1. Cytologische Effekte und deren genetische Folgen

a) Spindelstörungen:

Außer Aloe-Emodin-glucosid zeigen alle hier geprüften Teilstoffe von Abortiva der Volksmedizin deutlich eine funktionsstörende Wirkung auf den Spindelapparat. Als schwächste Störungsart tritt bei allen eine unsaubere Einordnung in die Äquatorebene auf. Thujon und Sabinen bewirken ferner, daß einzelne Chromosomen abseits der Metaphaseplatte liegen, sogenanntes non-congression. Es läßt sich aber nun an diesen fixierten Präparaten nicht ohne weiteres entscheiden, ob es sich dabei um eine Ablösung der betreffenden Chromosomen vom Spindelapparat handelt, oder ob nur eine verlangsamte, aber sonst normale Bewegung der Chromosomen fixiert wurde. Denn SIEBS (1960) konnte in Beobachtungen an lebenden Zellen feststellen, daß solche Chromosomen noch nach 60 Minuten in die Metaphaseplatte einwandern können. Jedoch scheint es sich bei dieser Wirkung der beiden Terpene nicht um ein solches zeitliches Phänomen zu handeln, denn auch in der Anaphase finden sich einzelne Chromosomen, die die polwärts gerichtete Bewegung nicht mitmachen (non-disgression). Da es sehr wohl möglich ist, daß diese in der Anaphase separat liegenden Chromosomen auch schon in der Metaphase abseits lagen, also eine Folge von prometaphasischem non-congression darstellen, spricht dies für eine totale Ablösung vom Spindelapparat, noch dazu, da nach Ansicht von CARLSON (1956) und BAJER und MOLE'- BAJER (1956) die anaphasischen Bewegungen erst einsetzen, nachdem alle Chromosomen die Äquatorplatte erreicht haben.

Auf eine ähnliche Störung könnten die nach Thujonbehandlung auftretenden Dreigruppenmetaphasen deuten. Deren cytologisches Bild ähnelt aber nicht den "metaphase à trois groupes", die von DUSTIN und PARMENTIER (1953) und PARMENTIER (1953) nach Einwirkung von Hydrochinon auf die Mitosen des Darmes von

Dreigruppenmetaphase
(Skizze)



Mäusen und des Knochenmarks von Goldhamstern, sowie von ROSIN und DOLJANSKI (1953) bei Einwirkung des gleichen Agens auf Hühnerherzfibroblasten in vitro beschrieben wurden. SIEBS (1960) konnte ferner an tierischen Zellen dreikernige Zellen beobachten, von denen sie glaubt, daß sie durch Rekonstruktion aus den "metaphase à trois groupes" entstanden sind. Zwar finden sich auch nach Thujonbehandlung viele dreikernige Zellen, doch dürften diese nicht nur auf Dreigruppenmetaphasen, sondern überwiegend auf tripolare Mitosen zurückzuführen sein.
Außerdem ist dieses Nichteinwandern einzelner Chromosomen in nur eine Metaphasegruppe deutlich mit einem Anstieg der Prophaseanzahl verbunden, ein Effekt, den bereits TIMONEN und THERMAN (1956), BARTHELMESS und EINLECHNER (1960) und FITZGERALD (1961) bemerken konnten. Es wird sich dabei um eine Hemmung des Überganges von Prophase zu Metaphase handeln, da der Mitoseindex bei Thujonbehandlung in solchen Wurzelspitzen nicht merklich verändert erscheint.
Als weitere partielle Inaktivierung der Spindel treten die sogenannten "Zifferblattmeta- und anaphasen" auf, die typisch für alle drei Terpene sind. Bei ihnen scheint die Mitose bis zur Metaphase einigermaßen normal zu erfolgen, denn die einzelnen Chromosomen liegen oft sauber geordnet in der Äquatorplatte, aber trotz Trennung der Chromatiden kommt es zu keinerlei Anzeichen einer Anaphasebewegung, vielmehr werden diese Gruppen telomorph in situ. Eine ähnliche Störung konnten WILSON und MORRISON (1958) mit Jodessigsäure an Pisum induzieren.
Daneben kommt es aber bei Thujaplicin und den drei Terpenen auch zur totalen Inaktivierung oder Zerstörung der Spindel. Unter diesen apolaren Stathmokinesen finden sich vereinzelt Bilder, die an die "Colchicinmitose" (LEVAN 1938) erinnern. Dieses sonst andersartige Bild ist aber nicht der einzige Unterschied, denn es müssen verschiedene Angriffspunkte innerhalb des Mitoseablaufes vorliegen. Im Gegensatz zu Colchicin, das in niederen Konzentrationen den Beginn der Mitose nicht hemmt, sondern nur spätere Phasen, womit es zu einer Ansammlung von in der Mitose arretierter Zellen kommt, erfolgt nach Einwirkung von Thujaplicin und den Terpenen ein Absturz der Mitosezahl bis gegen Null, sowie in der Erholung ein allmählicher Wiederanstieg

des Mitoseindex zur Norm der Kontrollen. Dieser weitgehend andere Wirkungsmechanismus weist auf ein Eingreifen der Agentien schon vor Mitosebeginn hin.
Die drei Terpene zeigen neben dieser stathmokinetischen auch merokinetische Wirkung, die vom Sabinen über Thujylalkohol zum Thujon zunimmt. Der hinsichtlich der Affinität zu Wasser polare Molekülbau von Thujylalkohol und Thujon bestätigt die Annahme (BARTHELMESS 1957, BARTHELMESS und EINLECHNER 1960 und BARTHELMESS und ELKABARITY 1963), daß solche Substanzen mehrpoligen Mitoseverlauf bewirken können. Das Beispiel von Sabinen zeigt aber, daß dies nicht immer gültig ist. Bei allen drei Substanzen werden nie mehr als drei Pole ausgebildet. Außerdem herrschen diese Anomalien neben der Stathmokinese vor allem in der höchsten Konzentrationsstufe vor, während in niederen Konzentrationen nur stathmokinetische Mitosen verursacht werden. Dieses Ergebnis steht in klarem Gegensatz zu Befunden von ÖSTERGREN (1944), der nach Einwirkung von mehr als 50 Agentien auf Allium cepa nur in niederen Dosen mehrpolige Anaphasen finden konnte und diesen Effekt deshalb "partielle C-Mitose" nannte. Es kann sich also zumindest bei den terpen-induzierten merokinetischen Mitosen nicht um eine "partielle C-Mitose" handeln, vielmehr dürfte allgemein die merokinetische Wirkung eine klar gegenüber der Stathmokinese abgegrenzte Störungsart sein.

Eine besondere Form der Spindeldefekte bilden die Star-Mitosen bei Thujaplicin, die in der niedersten Konzentrationsstufe am häufigsten vorkommen. ÖSTERGREN (1950) erklärte diesen Störungstyp mit der Ausbildung nur eines Poles, nach dem die Centromere aller Chromosomen gerichtet seien. Nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen von DE HARVEN und BERNHARD (1956) werden die Star-Mitosen als Ausdruck der Persistenz einer schwachen Spindelaktivität erklärt. Es dürfte sich also um eine partielle Spindelstörung handeln und zwar um eine besondere Form der Stathmokinese, denn nur bei echt stathmokinetischen Stoffen, wozu ja auch Thujaplicin gehört, konnten bisher Star-Mitosen gefunden werden. Nach BAUCHINGER (1964) wäre aber auch möglich, daß die Sternmitosen durch Erhaltenbleiben der Telophaselage der Chromosomen aus der vorangegangenen Teilung und gemeinsamen Transport zur Zellmitte zustande kommen.

b) Strukturaberrationen:

Dazu werden Punktmutationen, Brüche und Umlagerungen gezählt, die eine Änderung im Molekularmuster bzw. der Architektur des Nukleoproteins bewirken. Nach den im experimentellem Teil geschilderten Versuchsergebnissen ist eine zur Auslösung von Chromosomen- und Chromatidaberrationen führende Wirkung von Thujon, Thujaplicin und Aloe-Emodin-glucosid nachgewiesen. Die Beobachtungen bei allen drei Stoffen scheinen zu zeigen, daß die gegebene Behandlung keine spezifischen Stellen bevorzugt bricht, dafür aber, ähnlich Röntgenstrahlen, wahllos verteilte Brüche induzieren kann. Anders ist es dagegen mit dem Zeitpunkt des strukturmutagenen Angriffs der einzelnen Teststoffe. Wie die Versuche zur Bestimmung der für Strukturaberrationen sensiblen Phasen im Zellzyklus mit Hilfe der Methode von ÖSTERGREN und WAKONIG (1954a) zeigen, ist nur bei Thujaplicin die Interphase der bevorzugte Zeitraum, in dem es zu Defekten an der Chromosomenstruktur kommen kann. Thujaplicin besitzt also - wenigstens nach der Definition von BACQ (1958) und LOVELESS (1951) - eine echte radiomimetische Wirkung auf die Wurzelspitzen. Da nach 24 Stunden Erholung die Zahl der Chromatidbrücken stark zunimmt, muß es häufig im Anschluß an den Bruch zu einer Fehlfusion von gebrochenen Chromatiden gekommen sein. BAJER (1963) konnte in unmittelbaren Beobachtungen an Mitosen im Endosperm von Haemanthus katherinae bestätigen, daß sich solche dizentrische Chromosomen sogar über Zellgenerationen hinweg durch einen Bruch-Reunionszyklus halten können.
Die Versuchsergebnisse mit Aloe-Emodin-glucosid deuten dagegen darauf hin, daß bei diesem Teststoff die höchste Sensibilität für Strukturschädigungen frühestens in der Prophase liegt. Da ferner der Teststoff erst das Cytoplasma und die Kernwand passieren muß, bevor er das Chromatin beeinflussen kann, könnte man daraus folgern, daß der Zeitpunkt des strukturmutagenen Angriffes nicht schon im ersten Stadium der Prophase liegt. Die Nachbehandlung mit Colchicin läßt fast keine Translokationen erkennen, vielmehr kann fast ausschließlich nur terminales und interkalares Haften beobachtet werden. Ein derartiges lokalisiertes Chromatidhaften, das in der Prophase induziert

wird, soll nach DAVIDSON (1957) das Ergebnis von Bruch und Reunion sein. Ähnliche Chromosomenaberrationen, die ebenfalls in der Prophase induziert waren, fanden auch LA COUR und RUTISHAUSER (1953) bei Scilla sibirica nach Röntgenbestrahlung. Auch diese Autoren führen solche Effekte auf Brüche zurück, doch haben sie über deren Ursachen konkretere Vorstellungen. Nach ihrer Meinung handelt es sich dabei um Brüche an den Untereinheiten von Chromatiden, deren teilweise Reunion terminales und interkalares Haften entstehen lassen kann. Auch ÖSTERGREN und WAKONIG (1954b) berichten über solche Subchromatidbrüche. Sie sehen diese als Ursache verschiedener cytologischer Phänomene an, vor allem für das Auftreten von chiasmaähnlich verknüpften Anaphasechromosomen, die nach ihren Befunden auch nur in Kernen auftreten, die während der Behandlung in Prophase waren. Die Bilder, mit denen sie Subchromatidbrüche illustrieren, gleichen dabei stark jenen Figuren, die auch mit Aloe-Emodin-glucosid unmittelbar nach Behandlung gefunden werden. Doch glauben ÖSTERGREN und WAKONIG, daß dabei das "ganze Chromatid" gebrochen ist und daß das Haften nur durch ein "Verschmelzen der Matrix" gebildet wird. Aber sie stehen ziemlich allein mit dieser Ansicht, denn auch SHAW (1958), der nach Kältebehandlung an Trilliumarten feststellen konnte, daß bestimmte Punkte in heterochromatischen Segmenten in der Anaphase miteinander verbunden sind, glaubt, daß diese in der Prophase induzierten Haftpunkte, die er "adhesion loci" nennt, zu den von Reunion gefolgten Subchromatidbrüchen gehören. Nach LA COUR und RUTISHAUSER (1954) führen alle diese auch als "point errors" bzw. "pseudochiasmata" (LEVAN und TJIO 1948), "point effects" (REES 1952) und "point unions" (DAVIDSON 1957) bezeichneten Subchromatidbrüche, außer denen von intrachromatidalem Ursprung, zu Brücken, ohne daß gleichzeitig azentrische Fragmente auftreten. Wenn dies zutrifft, dürfte es auch die Erklärung dafür sein, daß mit Aloe-Emodin-glucosid unmittelbar nach 4-stündiger Behandlung mehr Brücken als Fragmente zu finden sind.

Bei Thujon endlich kann mit der Colchicinvorbehandlung keine eindeutig bevorzugte bruchauslösende Phase im Zellzyklus festgestellt werden. Doch könnte man trotz der ungefähr gleich hohen Anzahl von Brüchen und Translokationen in diploiden und

tetraploiden Zellen auf eine größere Störungsanfälligkeit der diploiden Zellen schließen, wenn man in Rechnung zieht, daß in tetraploiden Kernen die Kontaktgelegenheit für Chromosomenbruchstellen größer sein wird. Demnach würden bei Thujon, wie schon in stärkerem Maße bei Thujaplicin, die Aberrationen vor allem in der Interphase induziert werden.

c) Stickiness und Pyknose:

Thujaplicin und Thujon, sowie in geringerem Maße auch Thujylalkohol scheinen zu jenen Chemikalien zu gehören, die ziemlich stark die Matrix beeinflussen. Dabei verläuft der Kernteilungsvorgang bis zur Metaphase für gewöhnlich normal. Erst hier tritt zusammen mit der Wirkung auf den Spindelapparat die Verklebungstendenz auf. Ähnliches konnten z.B. BAUCH (1948) bei Einwirkung von Trypaflavin auf Allium cepa und DEUFEL (1951) mit Urethan auf Vicia faba feststellen. Daneben wird in der Literatur noch von vielen anderen chemischen und auch physikalischen (Röntgenstrahlen) Einwirkungen berichtet, die alle Stickiness auslösen. Das cytologische Bild wird allgemein auf eine Viskositätsänderung der Oberfläche, bzw. der Hüllsubstanz ("Matrix") der spiralisierten Mitose-Chromosomen zurückgeführt. Ganz besonders zäh haften offenbar die Enden der Chromosomen bzw. Chromatiden aneinander. Dadurch entstehen jene "unechten" oder "Haftbrükken", die oft so schwer von "echten" oder "Strukturbrücken" zu unterscheiden sind, und die bei weiterer Dehnung anscheinend auch Strukturbrüche in den zu langen dünnen Fäden ausgezogenen Chromosomenarmen verursachen können. Allerdings scheinen im letzteren Falle diese Brüche nicht ausschließlich mechanisch erzeugt, sondern vieleicht auch chemisch vorbereitet zu sein. Jedenfalls glauben RESENDE und MANARTE (1951) nicht, daß die Dehnung der verklebten Chromosomen in der Anaphase allein schuld ist an einem möglichen Bruch des Chromatids. Sie schließen dies aus dem gleichzeitigen Vorkommen von lang ausgezogenen neben kurzen gebrochenen Chromatiden. Dieser Schluß ist allerdings nicht überzeugend, da WADA (1952a) in Untersuchungen an Mitosen von Tradescantia'Haarzellen in vivo feststellen konnte, daß sich die Enden nach dem Reißen solcher zu einem dünnen Faden ausgezogener "Brücken" sofort kontrahieren und die "normale Ge-

stalt von Chromosomenenden" wiedererlangen. Daß es bereits vor der starken Dehnung der "Sticky-Brücke" in der Anaphase zu einem Bruch gekommen ist, dürfte aber dennoch stimmen, denn nach WADA (1952a) enthält dieser dünne Faden kein Chromatin, vielmehr ausschließlich Matrixmaterial.
Die unter Beteiligung von Stickiness entstandenen Chromosomenfragmente bleiben zunächst durch die Matrix mit dem übrigen Chromosom verbunden und werden meist in einen der Tochterkerne eingeschlossen. Ist dort eine stabile Reunion nicht möglich, so können derart entstandene Fragmente erst in der nächsten Mitose als freie Fragmente oder Kleinkerne austreten.
Ferner wäre daran zu denken, daß Telophasebrücken oder nachschleppende Chromosomenarme durch die neu sich bildende Kernmembran abgeschnürt werden und sich zu Kleinkernen umbilden. Diese "sekundäre Fragmentation" konnte auch WADA (1952a) in seinen Untersuchungen in vivo bei relativ rasch wachsenden Zellen, sowohl für dizentrische Chromosomen und Sticky-Brücken, als auch für azentrische lange Fragmente, beobachten. Aus solchen sekundären Brüchen könnten vielleicht die vielen Brücken und Fragmente stammen, wenn "dicentrics" oder Translokationen nur selten nachweisbar sind.

Neben dieser lokalisierten Stickiness kann aber auch die ganze Oberfläche der Chromosomen verkleben. Es werden dabei "clumps" gebildet, bei denen der Mitoseablauf schon in der Prometaphase gestoppt ist. Solche clumps sollen nach HYYPIO, TSOU und WILSON (1955), sowie HADDER und WILSON (1958) nicht letal sein, vielmehr sollen aus ihnen tetraploide Zellen entstehen. Tetraploidie konnte aber nur nach Behandlung mit Thujaplicin, nicht dagegen mit Thujon erzeugt werden. Es dürfte sich also bei den Verklumpungen nach Thujon- und Thujylalkoholeinwirkung nicht nur um die Folgen einer Wirkung auf die Matrix handeln, sondern es dürfte auch das Chromatin davon betroffen sein. Schon SIEBS hat 1963 vorgeschlagen, solche extreme - aber nicht letale - Verklebungen, wie sie die clumps darstellen, von jenen Pyknosen zu unterscheiden, die durch toxische letale Chromatinschädigung induziert werden. Die Chromosomen der Pyknosen verklumpen infolge allgemeiner Chromatinagglutination in der Prophase oder Praemetaphase zu einer homogenen Masse, worauf die Zellen unter

Degenerationserscheinungen zugrunde gehen. Nach RIEGER und MICHAELIS (1958b) können auch schon die Interphasen toxisch geschädigt werden, womit nach Verdichtung der Kernkolloide unter Wasserverlust eine Viskositätszunahme resultiert, die eine unregelmäßige Form der Interphasekerne bewirkt. Solche cytologische Bilder finden sich bei Thujaplicin und den drei Terpenen - bei Sabinen aber sehr selten - in den höchsten Konzentrationen. Dabei fallen alle pyknotischen Kerne sofort durch ihre intensivere Färbung auf, die auf den ersten Blick auf einen Nukleinüberschuß deutet. LEUCHTENBERGER (1950) konnte aber durch Absorptionsmessungen feststellen, daß trotz der viel dunkleren Färbung dieser degenerierten Kerne keine Nukleinsäurezunahme nachweisbar ist. Nach ihrer Meinung besteht vielmehr der wesentliche chemische Unterschied zwischen normalen und pyknotischen Kernen im Verlust von fast der Hälfte des Proteins verbunden mit einer Depolymerisation von über der Hälfte der DNS. Auf diese Beziehung weisen auch einige Daten von DI STEFANO (1950) hin.

d) Prophasevergiftung:

Hohe Konzentrationen von Thujon bei kurzer Behandlungszeit und niedere Konzentrationen bei langer Behandlungszeit verursachen eine fast totale Mitoseblockierung. Dabei werden nicht nur sämtliche anlaufenden Mitosen schon in der späten Prophase von der Arretierung erfaßt, sondern es erfolgt auch gleichzeitig eine Vermehrung abnormer Prophasen. Bei diesen deutlich beeinflußten Stadien verkürzen sich nach längerer Arretierung des Teilungsablaufes die Chromosomen bis zur Metaphaselänge, wobei sie sichtbar gespalten sind, ohne daß es aber zu einer völligen Trennung der spreizenden oder parallel gelagerten Chromatiden kommt. Da die Kernwand in solchen Stadien noch erhalten scheint und außerdem diese abnormen Zellen vielfach einen vergrößerten Kernraum zeigen, könnte man daraus auf einen erhöhten Druck im Prophasekernraum schließen. Einen solchen cytologischen Effekt beschrieben schon MARQUARDT (1938) und HENSHAW (1940). Letzterer glaubte, daß diese Erscheinung eine spezifische Strahlenwirkung sei, aber schon D'AMATO (1949,1950) konnte die gleiche Prophasehemmung mit vielen synthetischen und natürlich vorkommenden Substanzen auslösen. Es dürfte sich hier wahrscheinlich um eine

stathmokinetische Anomalie handeln, bei der der Übergang von später Prophase zur Prometaphase mißlingt, wodurch bereits zu diesem Zeitpunkt die Chromosomen telomorph verändert werden. Nach RIEGER und MICHAELIS (1958b) werden solche arretierte Prophasen je nach der Konzentration durch die Behandlung abgetötet oder machen unter Entspiralisierung der Chromosomen eine rückläufige Entwicklung zur Interphase durch. Bei Thujaplicin dagegen kommt es in geeigneter Konzentration nicht einmal zur Prophaseausbildung, vielmehr setzt hier eine Hemmung schon am Übergang von Interphase zu Prophase ein, womit sich Thujaplicin als typischer Vertreter der Praeprophasegifte (D'AMATO 1954) ausweist.

e) Dysgenische Folgen der cytologischen Effekte:

Die Folgen der Funktionsstörungen am Spindelapparat und der Stickiness sind in der Regel Tochterkerne mit abgeänderten Chromosomenzahlen. So konnten nach Behandlung mit Thujaplicin polyploide, mit Thujon hypoploide Mitosen gefunden werden. STARR (1963) berichtet sogar von colchicininduzierten Kleinkernen in Mc Coy-Zellen, die in die Prophase und eventuell bis zur Metaphase gelangen konnten. Außerdem entstehen nach Behandlung mit den bruchauslösenden Substanzen Aloe-Emodin-glucosid, Thujaplicin und Thujon Kerne, deren Chromosomen Deletionen und Translokationen aufweisen. Daß heteroploide Kerne und solche mit Strukturdefekten erhaltungs- und teilungsfähig sind, zeigen zahlreiche Erfahrungen nicht nur an verschiedenen Pflanzen und Tieren, sondern auch beim Menschen. So treten z. B. Anomalien der Geschlechtschromosomen auf, wie das Klinefelter- und das Ullrich-Turner-Syndrom, oder autosomale Chromosomendefekte, wie das Philadelphia-Chromosom (NOWELL und HUNGERFORD 1960) und das Cri du chat-Syndrom (LEJEUNE, LAFOURCADE, BERGER, VIALETTE, BOESWILLWALD, SERINGE und TURPIN 1963). Weitere Beispiele für Chromosomenanomalien, sowie umfassende Literaturangaben finden sich bei SCHADE (1963), FUHRMANN (1965) und STOCKENIUS (1966).
Ob auch in Zellen, die lichtmikroskopisch keine Strukturänderungen an Chromosomen erkennen lassen, submikroskopische Defekte, vor allem Genmutationen ausgelöst werden, ist mit dem hier verwendeten Test nicht prüfbar. Wie jedoch OEHLKERS (1949),

LÜERS (1955a, 1955b) und KAPLAN (1962) mit Nachdruck betonen, ist aus theoretischen Überlegungen zu erwarten und mehrfach auch experimentell nachgewiesen, daß alle Agentien, die Chromosomenmutationen hervorrufen, auch Genmutationen induzieren.

2. Konstitutionsspezifität

a) Das Tropolon Thujaplicin:

Über die Effekte von Tropolonverbindungen, die meist als Cytostatica in der Krebstherapie verwendet werden, haben schon SATO und AKAISHI (1951) berichtet. Nach ihnen wirken p-aminotropolon und o-bromo-p-aminotropolondiacetat stark stathmokinetisch. WADA (1952a) konnte in Untersuchungen an Tradescantia-Haarzellen in vivo diese Spindelaktivität für das p-aminotropolon bestätigen, aber nicht für das p-acetylaminotropolon. Dagegen wirkt sich die Acetylierung in einer Zunahme der radiomimetischen Eigenschaften aus. Ferner verursacht das 2-hydrazintropon und das 7-brom-2-hydrazintropon eine Schwellung der mitotischen Chromosomen, wodurch vielfach Verklebungen mit anschließender Brückenbildung zustande kommen (WADA 1952b). Auch das 2-amino-1,3-diazazulen übt nach WADA (1953) eine dem Colchicin ähnliche Wirkung aus. Schließlich untersuchte SHIMIZU (1962) 106 verschiedene Tropone, Tropolone und Azulone, wobei er bei allen Verbindungen stathmokinetische Mitosen fand, neben zahlreichen anderen Anomalien, wie Prophasestop und Chromosomenpyknose. Diese Ergebnisse, sowie die Versuche mit Thujaplicin in dieser Arbeit, deuten darauf hin, daß iso-cyklische Verbindungen, die eine ungesättigte Siebenring-Struktur als Grundkörper in ihrem Molekül haben, bevorzugt auf die Spindel wirken und zwar rein stathmokinetisch. Dieser Vorstellung entspricht auch das Colchicin, das ja zwei solche Siebenringe besitzt. Denn weder nach Einwirkung von Thujaplicin, noch nach der aller anderen Troponverbindungen konnten bisher mehrpolige Anaphasen beobachtet werden. Die weiteren Anomalien dieser ungesättigten Siebenring-Verbindungen dürften auf Wirkungen der Seitenkettenradikale beruhen. So schreibt z. B. SHIMIZU, von den Radikalen OCH_3, OH und NH_2 stamme die Chromosomenpyknose, von der Alkylierung der Seitenketten mit kleineren Alkylgruppen die toxische Wirkung. Doch sind diese Zusammenhänge zwischen bestimm-

ten Molekülgruppen und allgemeinen Effekten auf die Zelle nicht sehr überzeugend. Besitzt doch z. B. das Colchicin mehrere OCH_3-Gruppen und weist trotzdem keine Chromosomenpyknose auf. Außerdem gilt die Alkylierung bzw. Acetylierung als bevorzugter Modus der chemomutagenen Wirkung.

b) Die Terpene Thujon, Thujylalkohol und Sabinen:

Alle drei Terpene induzieren Stathmokinesen, zeigen aber daneben auch Merokinesen. Letztere nehmen mit der Wasserlöslichkeit von Sabinen über Thujylalkohol zum Thujon zu. Die von BARTHELMESS (1957) auf Grund der Ergebnisse mit Alkoholen, Äthern und Ketonen aufgestellte Arbeitshypothese, daß Substanzen, die hinsichtlich Wasser polaren Molekülbau zeigen, merokinetisch wirken können, gilt für cyklische Verbindungen offenbar nur mit Einschränkungen, denn das völlig apolare Sabinen verursacht auch tripolare Anaphasen. Der Grund für einen solchen spezifischen Spindeleffekt, wie ihn die Merokinese darstellt, dürfte also bereits in der Terpengrundstruktur bedingt sein, das Ausmaß dieser Wirkung aber zusätzlich vom polaren Bau beeinflußt werden. Vergleiche mit anderen Terpenen konnten wegen der fehlenden cytologischen Untersuchung solcher Substanzen nicht angestellt werden.

c) Das Anthrachinon Aloe-Emodin-glucosid:

Die Versuche mit den Anthrachinonaglukonen Anthrachinon, Chrysazin, Chrysophansäure, Aloe-Emodin, Emodin und den Anthrachinonglucosiden Sennosid und Frangulin zeigten unter den gegebenen Versuchsbedingungen keine Störungen, die jenen ähneln könnten, die nach Behandlung mit Aloe-Emodin-glucosid hier bei Vicia faba und Alizarin bei Allium cepa (LEVAN und TJIO 1948) auftreten. Die Anthrachinone scheinen also mit Ausnahme der letzten beiden Derivate nicht störend auf Spindel oder Chromosomen zu wirken. Dieses Ergebnis verwundert aber, da für die cytogenetische Aktivität der Hydro-, Naphtho- und Mehrringchinone beträchtliche Ergebnisse vorliegen (LEVAN und TJIO 1948, LEHMANN 1960). Wahrscheinlich erklärt sich aber dieses abweichende Verhalten der Anthrachinone daraus, daß diese keinen echten Chinoncharakter besitzen, sondern nur eine Mittelstellung zwischen Chinonen und Diketonen einnehmen. Diese Mittelstellung beruht

darauf, daß der mittlere p-chinoide Ring des Anthrachinons von zwei benzoiden Kernen eingeschlossen ist, in denen die Mesomerie des π-Elektronensextetts größtenteils erhalten bleibt (BEYER 1963). Wahrscheinlich dürfte auch auf dieser Stabilität des Anthrachinonmoleküls die Zulassung von Karminsäure und von N,N'-Dihydro-1,2,1',2'-Anthrachinonazin als Lebensmittelfarbstoffe beruhen (Deutsche Forschungsgemeinschaft 1956). Werden doch nur Farbstoffe zugelassen, die bei der Prüfung in langdauernden, über die ganze Lebensdauer ausgedehnten Tierversuchen keine giftigen, cancerogenen oder keimschädigenden Eigenschaften erkennen ließen und deshalb als "unbedenklich" für die menschliche Gesundheit angesehen werden können.

3. Möglichkeit von Rückschlüssen auf gleichartige Aktivität beim Menschen.

Die vorliegende Arbeit zeigt cytologische Schäden, die durch Abortivabestandteile an Pflanzenzellen ausgelöst werden. Betroffen sind davon der mitotische Bewegungsapparat der Zelle und die Chromosomen. Da bei Tier und Mensch Chromosomen und Spindelapparat die gleiche chemische Zusammensetzung, die gleiche Funktion und weitgehend den gleichen Bau besitzen wie die jener Pflanzenzellen, liegt es nahe, die Möglichkeit einer ähnlichen Schädigung in Betracht zu ziehen.
Tatsächlich ist mit einer nicht mehr zu überhörenden Evidenz erwiesen, daß zahlreiche chemische Agentien bei so verschiedenen Organismen wie Bakterien, Blütenpflanzen, Insekten und Wirbeltieren in völliger Parallelität Mutationen auslösen. Beispiele für eine solche Übereinstimmung von chemischer Mutagenese zeigen MICHAELIS, SCHÖNFICH und RIEGER (1965) nach Einwirkung von N-nitroso-N-methylharnstoff auf Vicia faba und auf Ascitestumore der Maus, sowie OSTERTAG (1966) bei Drosophila und menschlichen Zell-Kulturen. Nach Auffassung von NACHTSHEIM (1963), KAPLAN (1962), LÜERS und RÖHRBORN (1961), LÜERS (1955a, 1955b) und BARTHELMESS (1956, 1959, 1961/1963) kann zwar auf Grund solcher Versuche nicht ohne weiteres behauptet werden, daß die geprüften Substanzen beim Menschen ebenfalls mutagene Wirkung haben, aber es muß doch zum mindesten mit der Möglichkeit gerechnet werden.

Die Wahrscheinlichkeit für ähnliche cytologische Schäden zusammen mit den entsprechenden dysgenischen Folgen auch beim Menschen wird außer von einem hohen Mutagenitätsgrad eines Agens vor allem davon abhängen, ob die Substanz in wirksamen Konzentrationen in die Zellen der menschlichen Keimbahn bzw. über das mütterliche Blut weiter bis in das ungeborene Kind gelangen kann. Wie LEWIN (1925, 1962) berichtet, werden aber in der Volksmedizin so große Dosen der Aufgüsse von Thuja, Juniperus oder Aloe oral eingenommen, daß mehrfach der Tod der Schwangeren als Wirkungsfolge der Mittel eintrat. Wenn ferner bedacht wird, daß diese Abortiva nicht nur in hohen Dosen, sondern auch tage- und wochenlang bis zum erwünschten Erfolg verabreicht werden, so kann eine für Erbschädigung ausreichende Substanzmenge angenommen werden, sofern diese mutagenen Stoffe tatsächlich über die Blutbahn zu Zellen der Keimbahn der Mutter oder des Embryos gelangen können. KAULLA und SHETTLES (1954) fanden in gerinnungsphysiologischen Untersuchungen, daß der menschliche Follikelsaft reich an jenen Komponenten des fibrinolytischen Systems ist, die auch im strömenden Blut vorkommen. Weiter konnten KAULLA, AIKAWA und PETTIGREW (1958) feststellen, daß radioaktive Substanzen, die in den Blutkreislauf gebracht werden, in den Follikelsaft ausgeschieden werden können. Außerdem fanden KAULLA, AIKAWA, BRUNS und WIKLE (1957), daß intravenös verabfolgte radioaktive Substanzen mit dem menschlichen Cervicalschleim ausgeschieden und in diesem angereichert werden. Da ferner KAULLA, AIKAWA und PETTIGREW (1959) feststellen konnten, daß das Mäuseei in vivo körperfremde Substanzen aufnimmt, kann demnach eine unmittelbare Einwirkung von mutagenen Agentien auf Keimbahn, Keimdrüsen und Keimzellen des Menschen nicht ausgeschlossen werden. Außerdem berichtet RITSCHEL (1962) von vielen Wirkstoffen, die wohl für den mütterlichen Organismus verträglich sind, aber nach Überschreiten der Placentaschranke und Eintritt in den fetalen Kreislauf teratogene Schäden des Kindes hervorrufen können. Dabei ist die Gefahr einer Schädigung desto größer, je früher die Agentien in der Schwangerschaft genommen werden.

Die Ergebnisse dieser Arbeit könnten also einen Beitrag zu der von WINDORFER (1953) vertretenen Möglichkeit einer Keim- und

Fruchtschädigung durch Abtreibungsmittel liefern. Daher sollten weitere Untersuchungen über eine dysgenische Wirkung an tierischen Versuchsobjekten sowie an menschlichen Zell-Kulturen vorgenommen werden.

E. Zusammenfassung:

1. Es werden die cytologischen Befunde in Versuchen an Wurzelspitzen von Vicia faba mit wässrigen Lösungen der Abortivabestandteile Thujaplicin, Thujon, Thujylalkohol, Sabinen und Aloe-Emodin-glucosid mitgeteilt.

2. Thujaplicin, Thujon, Thujylalkohol und Sabinen wirken in mehr oder weniger hohem Grade stathmokinetisch, die letzteren drei Substanzen auch merokinetisch.

3. Thujaplicin, Thujon und Thujylalkohol erzeugen ferner Mitoseanomalien durch Stickiness von Chromatiden und Chromosomen, wie z. B. Sticky-Brücken und Fehlverteilungen ganzer Chromatiden.

4. Thujaplicin, Aloe-Emodin-glucosid, Thujon und in sehr geringem Maße auch Thujylalkohol verursachen Chromosomenaberrationen. Bei Thujaplicin und Thujon und wahrscheinlich auch bei Thujylalkohol dürfte die Interphase die dafür bevorzugt sensible Phase sein. Aloe-Emodin-glucosid wirkt dagegen auf Mitosestadien ein und erzeugt Subchromatidbrüche mit Rearrangements.

5. Auf die dysgenischen Folgen der cytologischen Effekte wurde hingewiesen.

6. Eine Konstitutionsspezifität kann für das Thujaplicin und andere Tropolone, sowie für die Terpene Thujon, Thujylalkohol und Sabinen, nicht aber für das Aloe-Emodin-glucosid zusammen mit anderen Anthrachinonen festgestellt werden.

7. Die Möglichkeit von Rückschlüssen von den Versuchsergebnissen auf eventuelle mutagene oder teratogene Schäden beim Menschen durch derartige Bestandteile volkstümlicher Abortiva wird diskutiert.

F. Literatur:

BACQ, Z., 1958: Grundlagen der Strahlenbiologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart

BAJER, A., 1963: Observations on dicentrics in living cells. Chromosoma 14, 18-30

BAJER, A., and J. MOLE-BAJER, 1956: Cinemicrographic studies on mitosis in endosperm. Chromosoma 7, 358-607

BARTHELMESS, A., 1956: Mutagene Arzneimittel. Arzneimittelforschung 6, 157-168

BARTHELMESS, A., 1957: Chemisch induzierte multipolare Mitosen (I.). Protoplasma 48, 546-561

BARTHELMESS, A., 1959: Gefährliche Dosis. Herder Verlag, Basel, Freiburg, Wien

BARTHELMESS, A., 1961/1963: Möglichkeiten und Gelegenheiten zu Schädigung des Erbgutes beim Menschen durch mutagene Stoffe; ein Vorschlag zur Erforschung. Vortrag II. Internat. Kongreß für Humangenetik, 6.-12.9.(1961). Proc. II. Int. C. Human Gen. 1251-1258 (1963)

BARTHELMESS, A., und J. EINLECHNER, 1960: Chemisch induzierte multipolare Mitosen (II.). Protoplasma 51, 325

BARTHELMESS, A., und A. ELKABARITY, 1963: Chemisch induzierte multipolare Mitosen (III.). Protoplasma 54, 455

BAUCH, R., 1948: Irreversible Chromosomenschädigung durch Trypaflavin. Planta 35, 536-554

BAUCH, R., 1952: Das Problem der Mitosegift- und Wuchsstoffkeulen bei der Wurzel. Ber. dtsch. Bot. Ges. 65, 4

BAUCHINGER, M., 1964: Untersuchungen über die cytogenetische Wirkung von wasserlöslichen Röntgenkontrastmitteln. Z. für Zellforschung 63, 506-537

BEYER, H., 1963: Lehrbuch der organischen Chemie. Hirzel Verlag, Leipzig

BOCK, A., 1952: Überraschende Ergebnisse einer klinischen Fehlgeburtenstatistik von 1930 - 1950. Geburtshilfe und Frauenheilkunde 12, 683-695

CARLSON, J.C., 1956: On the mitotic movements of chromosomes. Science 124, 2o3-2o6

D'AMATO, F., 1949: Prophase poisoning by chemical agents. Caryologia 1, 327-328

D'AMATO, F., 195o: The quantitative study of mitotic poisons by the Allium cepa test. Data and problems. Protoplasma 39, 423-433

D'AMATO, F., 1954: Osservazioni citoistologiche sulla attiva antimitotica. Caryologia 6, 16o

DAVIDSON, D., 1957: The irradiation of dividing cells. 1) The effects of X-rays on prophase chromosomes. Chromosoma 9, 39-6o

DEUFEL, J., 1951: Untersuchungen über den Einfluß von Chemikalien und Röntgenstrahlen auf die Mitose von Vicia faba. Chromosoma 4, 239-272

Deutsche Forschungsgemeinschaft, Farbstoffkommission, 1956; Mitteilung 9. Steiner Verlag, Wiesbaden

DI STEFANO, H.S., 195o: A cytochemical study of the Feulgen nucleal reaction. Chromosoma 3, 282-292

DUSTIN, P., et PARMENTIER, R., 1953: Données expérimentales sur la nature des mitoses anormales observées dans certains épithéliomas du col utérin. Gynec. et Obstet. 52, 258-265

EVANS, H.J., and SAVAGE, J.R.K., 1959: The effect of temperature on the action of colchicine in root meristem cells of Vicia faba. Exptl. Cell Res. 18, 51-61

FITZGERALD, P.H., 1961: Mitosis in partially pycnotic He La cells. Exptl. Cell Res. 24, 584-588

FUHRMANN, W., 1965: Taschenbuch der allgemeinen und klinischen Humangenetik. Stuttgart

GAULDEN, M.E., and CARLSSON, J.G., 1951: Cytological effects of colchicine on the grasshopper neuroblast in vitro with special reference to the origine of the spindle. Exptl. Cell Res. 2, 416-433

GREBE, H., 1952: Können Abtreibungsversuche zu Mißbildungen führen? Geburtshilfe und Frauenheilkunde 12, 333-339

HADDER, J.C., and WILSON, G.B., 1958: Cytological assay of c-mitotic and prophase poison actions. Chromosoma 9, 91-1o4

HARVEN, E. de, et BERNHARD, W., 1956: Étude au microscope électronique de l'ultrastructure du centriole chez les Vertébrès. Z. Zellforschung 45, 378-398

HENSHAW, P.S., 194o: Further studies on the action of Röntgen rays on the gametes of Arabica punctulata. I. Amer. Journ. Roentg. 43, 899-9o6

HÖRHAMMER, L., FARKAS, L., WAGNER, H., MÜLLER, E., 1964: Synthese und Strukturbeweis des Aloe-Emodin-8-mono-beta-D-glucosids aus Rheum palmatum var. tangut. Chem. Berichte 97, 1662-1665

HYYPIO, P.A., TSOU, T.M., and WILSON, G.B., 1955: Some notes on the "c-mitotic" action of colchicine and technical lindane. Cytologia 2o, 166-176

KAPLAN, R.W., 1962: Probleme der Prüfung von Pharmaka, Zusatzstoffen u. a. Chemikalien auf ihre mutationsauslösende Wirkung. Naturw. 49, 457

KATO, Y., 1955: Polyploid mitoses, extranuclear bodies and mitotic aberration in seedlings of Lilium Maximowiczii. Cytologia 2o, 1

KAULLA, K.N.v., AIKAWA, J.K., BRUNS, P.D., and WIKLE, W.T., 1957: Secretory Function of the Human Uterine Cervix. Fertil. and Steril. 8, 444-454

KAULLA, K.N.v., AIKAWA, J.K., and PETTIGREW, J.D., 1958: Concentration in the Human ovarian follicular fluid of radioactive tracers and drug circulating in the blood. Nature 182, 1238

KAULLA, K.N.v., AIKAWA, J.K., und PETTIGREW, J.D., 1959: Ist das menschliche Ei für in den Kreislauf gelangende radioaktive Substanzen und für Medikamente erreichbar? Klin. Wschr. 37, 1248

KAULLA, K.N.v., und SHETTLES, L.B., 1954: Beitrag zur Kenntnis des proteolytischen Fermentsystems im menschlichen Spermaplasma, Mucus cervicales, Tubarschleimhaut und Liquor folliculi. Klin. Wschr. 32, 468-472

KECK, K., und HOFFMANN-OSTENHOF, O., 1954: Chemisch induzierter Chromatinaustritt aus pflanzlichen Zellkernen. Exptl. Cell Res. 7, 111

KECK, K., und HOFFMANN-OSTENHOF, O., 1956: Stoffwechselprodukte von Alliumarten als Mitosegifte. Cytologia 21, 208

LA COUR, L.F., and RUTISHAUSER, A., 1953: Chromosome breakage experiments with endosperm: sub-chromatid breakage. Nature 172, 501

LA COUR, L.F., and RUTISHAUSER, A., 1954: X-rays breakage experiments with endosperm. 1. sub-chromatid breakage. Chromosoma 6, 696-709

LEHMANN, F.E., 1960: Synergie et antagonisme des substances antimitotiques et morphostatiques et leur influence sur l'activité morphogenetique de l'Hyaloplasme Embryonaire. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique. Paris

LEJEUNE, J., LAFOURCADE, J., BERGER, R., VIALETTE, J., BOESWILLWALD, M., SERINGE, P., TURPIN, R., 1963. C. R. Acac. Sci. (Paris) 257, 3098-3102

LEUCHTENBERGER, C., 1950: A cytochemical study of pycnotic nuclear degeneration. Chromosoma 3, 449-473

LEVAN, A., 1938: The effect of colchicine on root mitosis in allium. Hereditas 24, 471

LEVAN, A., 1939: Cytological phenomena connected with the root swelling caused by growth substances. Hereditas 25, 87-96

LEVAN, A., and LOTFY, T., 1950: Spontaneous chromosome fragmentation in seedlings of Vicia faba. Hereditas 36, 470-482

LEVAN, A., and TJIO, H.J., 1948: Induction of chromosome fragmentation by phenols. Hereditas 34, 452-484

LEWIN, L., 1925: Die Fruchtabtreibung durch Gifte und andere Mittel. Berlin, 4. Auflage

LEWIN, L., 1962: Gifte und Vergiftungen. Karl F. Haug Verlag, Ulm/Donau, 5. Auflage

LOVELESS, A., 1951: Qualitativ aspects of the chemistry and biology of radiomimetric (mutagenic) substances.

Nature 167, 338-342

LÜERS, H., 1955a: Genetische Spätschäden nach Behandlung mit cytostatischen Stoffen. 9. österreich. Ärztetagung, Salzburg (S.A.)

LÜERS, H., 1955b: Zur Frage der Erbschädigung durch tumortherapeutische Cytostatica. Zeitschrift f. Krebsforschung 6o, 528-535

LÜERS, H., und RÖHRBORN, G., 1961: Genetische Schäden durch Chemotherapeutica. Wissen u. Praxis 22

MARQUARDT, H., 1938: Die Röntgenpathologie der Mitose. Der Primäreffekt weicher Röntgenstrahlen auf die Mitose von Scilla campanulata. Z. f. Bot. 32, 4o1-482

MICHAELIS, A., RAMSHORN, K., und RIEGER, R., 1959: Äthylalkohol - radiomimetisches Agens bei Vicia faba L.. Naturw. 46, 381-382

MICHAELIS, A., SCHÖNEICH, J., und RIEGER, R., 1965: Chromosomenaberrationen bei Vicia faba und Ascitestumoren der Maus nach Einwirkung von N-nitroso-N-methylharnstoff. Chromosoma 16, 1o1-123

NACHTSHEIM, H., 1963: Derzeitiger Stand der Mißbildungsforschung. Der öffentliche Gesundheitsdienst 25, 447-467

NATRAJAN, A.T., and UPADHYA, M.D., 1964: Localized chromosome - breakage induced by ethyl-methane-sulfate and hydroxylamine in Vicia faba. Chromosoma 15, 156-169

NOWELL, P.C., and HUNGERFORD, D.A., 196o: Chromosome studies on normal and leukemic human leukocytes. J. Nat. Canc. Inst. 25, 85

OEHLKERS, F., 1949: Mutationsauslösung durch Chemikalien. Sitz. Ber. Heidelberger Ak. Wiss., Math. Naturw. Kl. 9. Abh., 373-41o

ÖSTERGREN, G., 1944: Colchicine mitosis, chromosome contraction, narcose and proteinchainfolding. Hereditas 3o, 429-467

ÖSTERGREN, G., 195o: Cytological standards for the quantitative estimation of spindle disturbances. Hereditas 36, 371

ÖSTERGREN, G., and WAKONIG, T., 1954a: A sensitive period at the chromosome breaking activity of coumarin. Proc. IX. Internat. Congr. Genet. Caryologia Suppl. 838-839

ÖSTERGREN, G., and WAKONIG, T., 1954b: True or apparent subchromatid breakage and the induction of labile states in cytological chromosome loci. Bot. Not. 4, 357-375

OSTERTAG, W., 1966: Chemische Mutagenese an menschlichen Zellen in Kultur. Abh. Ak. Wiss. und Lit. Mainz, Math. Naturw. Kl. Nr. 1

PARMENTIER, R., 1953: Production of "Three-Croup Metaphases". Nature 171, 1029

REES, H., 1952: Centromere control of chromosome splitting and breakage. Heredity 6, Suppl., 235-245

RESENDE, F., and MANARTE, M., 1951: Physiological changes as the cause of mutations. Portug. Acta biol. 3, 219-233

REVELL, S.H., 1953: Chromosome breakage by X-rays and radiomimetic substances in Vicia. Heredity 6, Suppl., 107-124

RIEGER, R., und MICHAELIS, A., 1958a: Cytologische und stoffwechselphysiologische Untersuchungen am aktiven Meristem der Wurzelspitzen von Vicia faba L., I. Der Einfluß der Unterwasserquellung der Samen auf die chromosomale Aberrationsrate. Chromosoma 9, 238-257

RIEGER, R., und MICHAELIS, A., 1958b: Genetisches und cytogenetisches Wörterbuch. Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg

RIEGER, R., und MICHAELIS, A., 1961: Beziehungen zwischen dem Wurzelwachstum und der Sensibilität der Wurzelmeristeme gegenüber verschiedenen Radiomimetica bei Vicia faba. Chromosoma 11, 573-581

RITSCHEL, W.A., 1962: Arzneistoffe und Arzneimittel, die während der Schwangerschaft, Laktation und Neugeborenen nicht gegeben werden sollen. Deutsche Apotheker Zeitung 102, 1601-1606

ROSIN, A., and DOLJANSKI, F., 1953: Effect of hydroquinone on mitosis. Nature 172, 1151

SATO, K., and AKAISHI, K., 1951: Effect of tropolone and related compounds (compound having unsaturated seven membered ring structure) on Yoshida sarcoma. Gann. 42, 15o-151

SCHADE, H., 1963: Chromosomenanomalien beim Menschen. Med. Welt 48, 49, 51

SHAW, G.W., 1958: Adhesion loci in the differentiated heterochromatin of trillium species. Chromosoma 9, 292-3o4

SHIMIZU, Y., 1962: Effects of chemicals on the mitotic cell in plant, with special reference to tropoids. Sci. Rep. Tohoku Univ., Ser 4, 28, 143-18o

SIEBS, W., 196o: Mitoseablaufstörungen: I. Polchromosomen und Dreigruppen-Metaphasen. Z. f. Zellforschung 51, 497

SIEBS, W., 1963: Mitoseablaufstörungen: III. Zur Wirkung von Vincaleukoblastin auf normale und maligne Zellen in vitro. Z. f. Zellforschung 61, 231-275

STARR, T.J., 1963: Fluorescence hicroscopy and autoradiography of colchicine-induced micronucleated cells. Nature 2oo, 6o8

STOCKENIUS, M., 1966: Chromosomenanomalien. Münch. Med. Wschr. 1o8, 1441

TIMONEN, S., and THERMAN, E., 195o: The changes in the mitotic mechanism of human cancer cells. Cancer Res. 1o, 431-439

WADA, B., 1952a: The effect of chemicals on mitosis studied in Tradescantia cells in vivo. 1) p-acetylaminotropolone. Cytologia 17, 14-34

WADA, B., 1952b: The effect of chemicals on mitosis studied in Tradescantia cells in vivo. 2) hydrazino-tropone compounds. Cytologia 17, 279-286

WADA, B., 1953: Effect of chemicals on mitosis studied in Tradescantia cells in vivo. 3) 2-amino-1,3-diazazulene, a chromosome doubling agent. Cytologia 18, 266-276

WILSON, G.B., and MORRISON, J., 1958: Mitotic activity and behavior as an index of chemical effect. Nucleus 1, 45-56

WINDORFER, A., 1953: Zum Problem der Mißbildungen durch bewußte Keim- und Fruchtschädigung. Mediz. Klinik 1o, 293

WORMS, M., 1952: Über die Häufigkeit der Mißbildungen an der Univ.-Frauenklinik Greifswald von 193o - 195o. Geburtshilfe und Frauenheilkunde 12, 443-447

Lebenslauf

Am 6. 7. 1939 wurde ich, Ernst Schmid, als Sohn des Kaufmanns Ernst Schmid (gefallen 1944) und seiner Frau Franziska, geborene Hann von Weyhern in Passau geboren. Von 1945 bis 1950 besuchte ich die Volksschule Passau-Innstadt und trat 1950 in die Oberrealschule Passau ein. Nach dem Abitur 1960 immatrikulierte ich mich an der Universität München. Ich studierte vom Wintersemester 1960/61 bis zum Sommersemester 1966 Naturwissenschaften. Im November 1964 begann ich mit einer Dissertation unter Leitung von Herrn Professor Dr. A. Barthelmeß am Botanischen Institut der Universität München.